This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

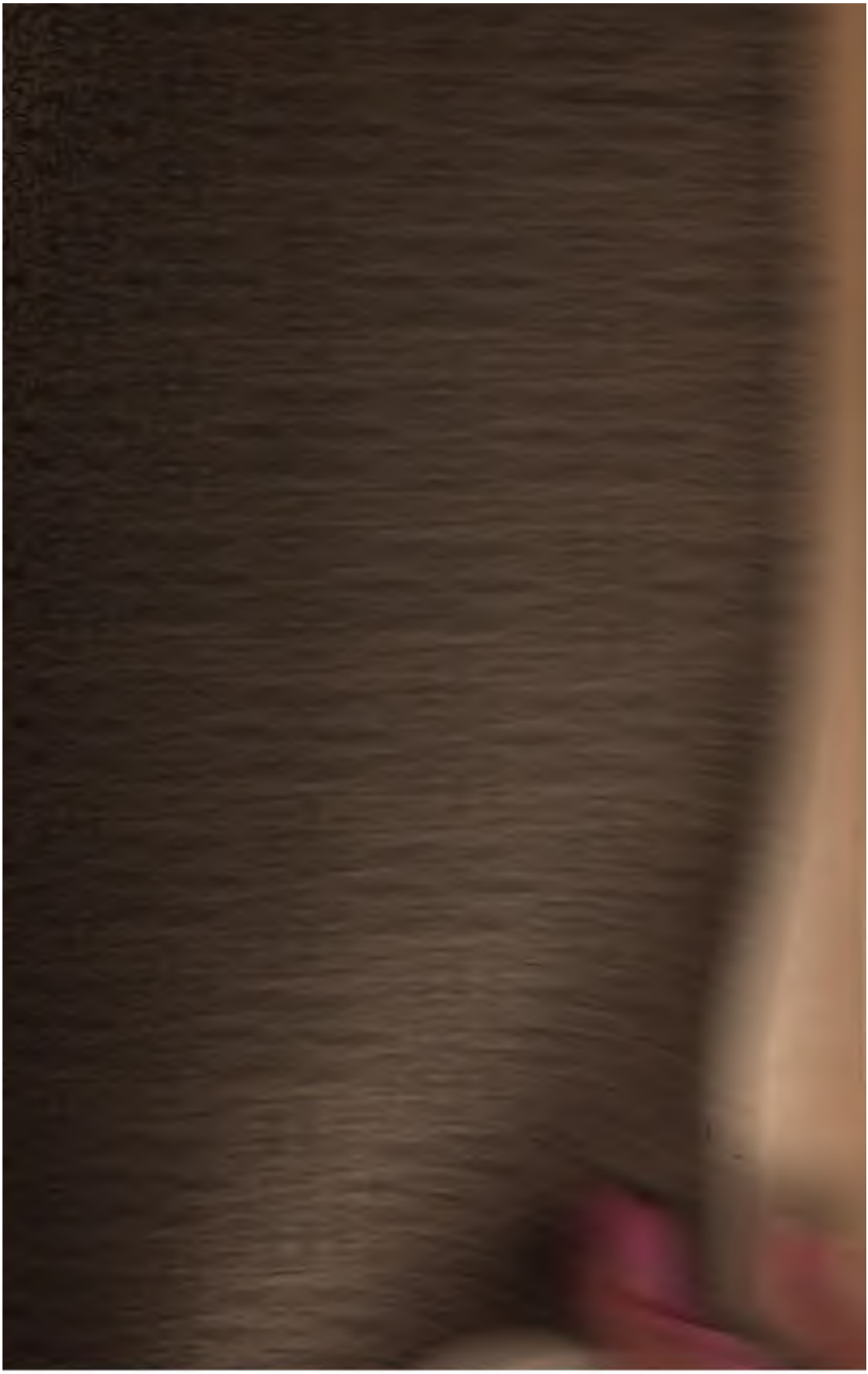
Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

LANE MEDICAL LIBRARY STANFORD
J43 .F91 1889 STOR
Microscopische technik zum gebrauch bei
24503335394

LANE
MEDICAL

LIBRARY
LIBRARY
Dr. Gustav Dresel
AMERICAN BANK NOTE CO. LITHO.



Mikroskopische Technik

zum Gebrauch

bei

medicinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen

von

Prof. Dr. Carl Friedlaender.

Vierte vermehrte und verbesserte Auflage

bearbeitet von

Prof. Dr. C. J. Eberth
in Halle.

Mit 47 Abbildungen im Texte und einer lithogr. Tafel.

BERLIN
FISCHER's MEDICINISCHE BUCHHANDLUNG
H. Kornfeld.
1889.

Alle Rechte vorbehalten.

LANE LIBRARY

F91
1889

Vorwort zur vierten Auflage.

Bei Umarbeitung von Friedlaender's mikroskopischer Technik war es vor Allem mein Bestreben, den neuesten Fortschritten auf diesem Gebiete Rechnung zu tragen, soweit sie besonders für pathologisch-anatomische Untersuchungen Anwendung finden. Die Technik des Schneidens und Zeichnens, die verschiedenen Einbettungen, die Abschnitte über Spaltpilze, Färbungsmethoden und Anderes sind nicht nur wesentlich ergänzt, sondern zum Theil neu bearbeitet, wobei in erster Linie auf die bereits erprobten Verfahren Bedacht genommen wurde. Ausserdem sind dieser Auflage mehrere Abbildungen der wichtigsten Apparate und Utensilien beigegeben.

Die Darstellung der Ehrlich'schen Methoden der Blutuntersuchung hat Herr Dr. Gollasch in Berlin gefälligst übernommen.

Halle, im Juni 1889.

Eberth.

59942

INHALT.

I. Mikroskop.

Seite.

1. Stativ, Abbe'scher Apparat 1
2. Objektivsysteme, Wasser- und Oel-Immersionen 3
3. Oculare, Nebenapparate, Combinationen 5
   Vergrösserung des Mikroskops 8
   Messen 8
   Zeichnen 8
   Malen 12

II. Sonstige Utensilien.

1. Beleuchtungslampe 12
2. Glasapparate und andere Geräthe 15
   Reinigung der Gläser 19
3. Metallinstrumente 19
4. Microtom 21
   Dicke und dünne Schnitte 28
   Weitere Behandlung der Schnitte 29

III. Verschiedene Vorbereitungsmethoden.

1. Das Fixiren 30
   Alkohol 30
   Osmiumsäure 31
   Picrinsäure 31
   Picrinschwefelsäure nach Kleinenberg 31
   Chromsäure 31
   Müller'sche Flüssigkeit 32
   Fixirmischung von Kultschitzky 32
   Flemming's Chromosmium-Essigsäuregemisch 33
   Chromosmiumsäure von Flesch 33
   Chromessigsäure 33
   Rabl's Chrom-Ameisensäure 33
   Benda's Fixationsflüssigkeit 33
   Jodalkohol 34
   Salpetersäure 34
   Essigsäure 34
   Ameisensäure 34
   Sublimat 34
   Platinchlorid 35
2. Das Kochen 35
3. Das Trocknen 36
4. Die künstliche Verdauung 36
5. Die Entkalkung 37

Seite.

6. Die Mazeration 39
7. Das Gefrieren 39
8. Die Einbettung oder Umgiessung und die Durchtränkung und Durchschmelzung 41
Die einfache Einbettung oder Umgiessung 41
Durchtränkung mit Gummi, Leim, Eiweiss, Seife 42
„ „ Photoxylin 42
„ „ Collodium oder Celloidin 43
Schneiden der Celloidinobjekte 44
Weitere Behandlung der Celloidinschnitte 44
Durchtränkung mit Paraffin 45
Paraffinsorten 45
Weitere Behandlung der Paraffinpräparate 46
Schneiden der Paraffinobjekte 47
Rollen der Schnitte 48
Serienschnitte 49
Schnittserien von Celloidinpräparaten 49
Färben und Differenziren 51
Einlegen der Schnittreihen 52
Serienschnitte von Paraffinpräparaten 52
Schnittbänder 54
Herstellung der Papiergummi-Collodiumplatten 55
Aufkleben der Schnitte 55
Ablösung der Collodiumschicht mit den Schnitten 56
Aufhellen und Einschliessen 56
9. Das Injectionsverfahren 56
a) Injectionsmasse 57
Injection mit blauer Masse 57
Carmininjection 58
b) Injectionsapparat 58
10. Conservirung der Präparate 61

IV. Reagentien, Microchemie.

Kunstprodukte 65
Microchemische Untersuchungen 67
1. Destillirtes Wasser 67
2. Kochsalzlösung, indifferente Zusatzflüssigkeit 68
3. Alkohol (Härtung) 68
4. Aether, Chloroform, Entfettung 70
5. Säuren 71
a) Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure (Entkalkung) 71
b) Essigsäure 72
c) Picrinsäure 73
d) Chromsäure, chromsaure Salze, Müller'sche Lösung 74
6. Alkalien, Kali- und Natronlauge. Ammoniak 75
7. Glycerin 76
8. Kali aceticum 78
9. Oele 78
10. Creosot, Carbolsäure, Xylol, Anilin 79
11. Die harzigen Einschlussmittel 80

Reagentien zum Färbungsverfahren.

Grundsätze der Färbetechnik 80
12. Jod 83
Glycogen 84
Corpora amylacea 84
Amyloid 85

Seite.

13. Carmin.
a) Carmin-Ammoniak 87
b) Picrocarmin 88
c) Natroncarmin 90
d) Boraxcarmin 90
e) Carmin-Alaun 91
f) Cochenille-Alaunlösung 91
g) Lithion Carmin 91
14. Hämatoxylin 91
Böhmer's Hämatoxylin 92
Friedländer's „ 92
Ehrlich's „ 92
Delafield's „ 93
Heidenhain's „ 93
Benda's Methode 94
Eosin-Hämatoxylin von Renaut 94
Färbung mit Hämatoxylin-Eosin 94
Weigert's Hämatoxylinfärbung des Centralnervensystems 95
Pal's Verfahren 97
15. Eosin 97
16. Anilinschwarz (Nigrosin) 98
Platner's Kernschwarz 98
17. Die edlen Metalle
a) Silber 99
Golgi's Silbermethode 100
b) Quecksilber, Golgi's Sublimatmethode 101
Pal's Modification der Golgi'schen Sublimatmethode 101
c) Gold 102
d) Osmiumsäure 103
18. Schwefelammonium 104
19. Die kernfärbenden, basischen Anilinfarbstoffe 105
Kernfärbung. Kernlose Zellen 105
Mastzellen 107
Amyloidfärbung 108
Flemming's Methode zur Färbung der Kerntheilungsfiguren 109
Nachweis und Färbung der Schizomyceten in den Geweben . . 111
a) Nachweis der Schizomyceten im ungefärbten Zustande 111
b) Färbung der Spaltpilze 113
Färbung der Sporen 115
Die Färbung fördernde Mittel 117
Haltbarkeit der Färbung 117
Entfärben und Differenziren 117
Doppelfärbung 118
Die wichtigsten Farbstoffe der Bacterienfärbung 119
Gentianaviolett 119
Methylviolett 119
Fuchsin 119
Bismarckbraun 119
Kalimethylenblau, Anilinwasser-Gentianaviolett, Carbolfuchsin . . 119
Kühne's Carbolmethylenblau 120
Weigert's Bacterienfärbung 121
Das Gram'sche Verfahren 121
Kühne's Modification der Gram'schen Methode 123
Trockenpräparate 123
Ausstrichpräparate 125
Färben der Deckglaspräparate 125
Weitere Behandlung 126
Die wichtigsten Spaltpilze 126

Seite

Streptococcus des Erysipels 126
„ pyogenes 126
Staphylococcus pyogenes aureus 126
„ „ albus 126
Bacillen des grünen Eiters 127
Der Gonococcus 127
Micrococcus tetragenus 127
Sarcine 128
Coccen der Fäulniss 128
Die Organismen der Diphtherie 128
„ „ bei Pneumonie 128
Pneumonie-Bacillus Friedländer's 129
Diplococcus der Pneumonie Fränkel's 129
Bacillus des Rhinoscleroms 130
„ „ Milzbrands 130
Bacillus des malignen Oedems 130
Bacillen der Fäulniss 131
Tuberkel-Bacillus. Ehrlich's Verfahren. Verfahren von Ziehl-Neelsen 131
B. Fränkel's Verfahren. Gabbet's Färbung 136
Leprabacillus 138
Rotzbacillus 138
Syphilisbacillus 139
Bacillus des Abdominaltyphus 140
„ der Cholera asiatica 140
Spirillum des Recurrensfiebers 141
Carcinom-Bacillus 141
Xerosis-Bacillus 141
Plasmodium-Malariae 142
Actinomyces-Pilz 142

V. Beobachtung lebender Gewebe.

a) bei Kaltblütern (Frosch) 143
1. Die Schwimmhaut 143
2. Zunge 144
3. Mesenterium 144
4. Cornea 144
b) bei Warmblütern (Säuger) 145

VI. Untersuchung von Flüssigkeiten.

Lebenseigenschaften der suspendirten Elemente. Amoeboide Bewegung 147
Die Form der Elemente 150
Untersuchung von Gewebssaft 150
„ auf Microorganismen 151
Die Koch'sche Methode der Färbung des Trockenpräparats 153
1. Blut 155
Zählung der Blutkörper 156
Trockenpräparate, Ehrlich's Methode 158
Weisse Blutkörper 159
Vermehrung der weissen Blutkörper, Leukocytose und Leukämie . . . 160
Veränderung der Grösse und Gestalt der weissen Blutkörperchen, Poikilocytose. Essentielle Anämie 162
Anderweitige im Blute vorkommende, zellige Elemente, Würmer und Schizomyceten im Blut 163
Untersuchung von Blutflecken. Häminkrystalle. Hämatoidin 165
2. Sputa 166
a) Mundflüssigkeiten 167
b) Produkte der Schleimhaut des Respirationsapparates 169

Seite.

c) Elastische Fasern, Fibrinausgüsse, Asthmakrystalle, Spiralfäden 172
d) Tuberkelbacillen 173
Bedeutung des Befundes der Tuberkelbacillen 174
Schwere und leichte Formen der Lungenphthisis 174
Pneumoniemicrococcen 178
Verschiedene Organismen 179
3. Eiter 179
a) Eiterkörperchen und Fettkörnchenzellen 179
b) Beimengungen 180
c) Schizomyceten und Actinomyceten 181
4. Urin 181
a) Niederschläge und Krystalle 182
b) Harncylinder 183
c) Eiter- und Schleimzellen. Epithelien 184
d) Tumorbestandtheile 185
e) Entozoen 185
f) Pflanzliche Parasiten 185
5. Secrete des Genitalapparates 186
a) Vaginalsecret 186
b) Uterinflüssigkeiten 187
Microorganismen 187
Dysmenorrhoische Membranen 188
Deciduafetzen 188
Diagnose des Uteruscarcinoms, Carcinom oder Erosion resp. Adenom 189
c) Trippersecret 191
d) Sperma und Prostatasecret 192
6. Magen- und Darminhalt 193
a) Speisereste 193
b) Epithelien, Schleim etc. 193
c) Entozoen 194
d) Pflanzliche Parasiten 195
7. Exsudate. Cysteninhalt 196

VII. Untersuchung fester Leichenbestandtheile, exstirpirter Tumoren etc. 198

I. Mikroskop.

Für die Wahl eines Mikroskops ist als Grundsatz aufzustellen, dass die Linsen und das Stativ vollkommen tadelfrei sein müssen. Man lasse sich nicht durch einen etwas niedrigeren Preis dazu verleiten, ein Instrument von geringerer Qualität anzukaufen. Darum wählt man am besten von vorn herein ein Instrument von einer renmomirten, zuverlässigen Werkstatt; sollte eine der gelieferten Linsen resp. andere Bestandtheile nicht allen berechtigten Anforderungen genügen, so sendet man dieselben sofort zurück; doch thut man besser, gleich ein mittelgrosses oder grosses Stativ, an dem sich später auch noch andere Apparate anbringen lassen, mit anzuschaffen.

Dagegen ist es durchaus nicht erforderlich, gleich zu Anfang die stärksten Objectivsysteme anzukaufen, welche den Preis des Instrumentes wesentlich vertheuern. Dem Anfänger genügen für die erste Zeit schwache und mittlere Vergrösserungen, bis höchstens 300; die Handhabung der noch stärkeren Linsen ist mit vielen Schwierigkeiten verknüpft und verlangt eine peinliche Accuratesse, dass es entschieden gerathen ist, sich erst längere Zeit durch Arbeiten mit schwächeren Vergrösserungen darauf vorzubereiten.

I. Stativ, Abbe'scher Apparat.

Das Stativ muss so eingerichtet sein, dass es auch für die stärksten Systeme noch brauchbar ist, besonders muss der Gang der Mikrometerschraube genügend fein sein; der Tisch gross, solide und feststehend, die Oeffnung nicht zu klein, so dass z. B. ein Rückenmarksquerschnitt (bei schwacher Vergrösserung und herausgenommener Blendung) noch in toto untersucht werden kann. Die Einrichtung zum Umlegen der Stative ist in der Regel überflüssig.

Die Cylinderblendungen (die Scheibenblendungen sind weniger vollkommen) müssen selbstverständlich exact centrirt und leicht zu wechseln sein.

Bei ungefärbten Objecten wendet man enge Blendungen an, um die Structuren bei stärkerer Vergrösserung scharf zur Anschauung zu bringen; für schwache Vergrösserungen ist es gewöhnlich nothwendig, eine weitere Blendung einzusetzen, um das volle Gesichtsfeld ausnützen zu können.

Für alle Fälle wünschenswerth und für Untersuchungen auf Schizomyceten nothwendig ist ein Condensor resp. ein Abbe'scher Apparat Die von dem Spiegel auf die Linse des Condensors geworfenen Lichtstrahlen werden durch dieselbe so gebrochen, dass sie sämmtlich in einen Punkt (Brennpunkt) zusammenlaufen, dieser Punkt liegt nun genau an der Stelle des Objects. Auf diese Weise erhält das Object eine colossale Menge von Licht, und zwar nicht nur, wie bei der gewöhnlichen Untersuchung mit engem Diaphragma ein Bündel annähernd paralleler Strahlen von unten her, sondern einen ganzen Kegel von möglichst grossem Oeffnungswinkel, in dessen Spitze eben das Object gelegen ist. Dadurch gehen die feinen Conturen des transparenten Objects, soweit sie auf Unterschieden des Lichtbrechungsvermögens beruhen, fast vollständig verloren, die Conturen (das Structurbild) werden (nach dem Ausdrucke Koch's) ausgelöscht. Um so schärfer treten die gefärbten Parthien desselben hervor (Isolirung des Farbenbildes, Koch), welche durch die Conturen der nicht gefärbten Theile vorher theilweise oder ganz verdeckt wurden; und so gelingt es durch die Untersuchung mit dem offenen Condensor sehr oft, intensiv gefärbte Microorganismen (oder sonstige kleine, gefärbte Körper) als solche zu erkennen, die bei gewöhnlicher Beleuchtung durch das Structurbild verdeckt werden und deshalb nur undeutlich oder selbst gar nicht erkennbar sind. Der Oeffnungswinkel des Lichtkegels beträgt bei dem Condensor des Abbe'schen Apparats 120°, die früher angefertigten Condensoren geben gewöhnlich einen viel kleineren Winkel und reichen daher nicht aus. Unter der Linse des Condensors befindet sich eine Scheibe mit verschieden grossen, zu wechselnden Diaphragmen; bei Anwendung eines engen Diaphragmas erhält man selbstverständlich eine ganz ähnliche Beleuchtung, wie bei einer engen Cylinderbeleuchtung; zur Isolirung des Farbenbildes werden die Blendungen vollständig entfernt. Die anderen complicirten Einrichtungen des Abbe'schen Apparats sind für unsere Zwecke bis jetzt nicht von wesentlicher Bedeutung. Dagegen ist die Benutzung der offenen Condensorbeleuchtung für alle gefärbten Präparate von sehr grossem Nutzen, für viele schwierige Untersuchungen sogar unentbehrlich; die Einführung dieser Methode verdanken wir Koch [1]).

Bei der Auswahl des Stativs muss also darauf geachtet werden, dass ein gut gearbeiteter Condensor mit grossem Oeffnungswinkel resp. ein Abbe'scher Apparat angebracht ist oder wenigstens angebracht werden

---

[1]) R. Koch, Untersuchungen für Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig, 1878.

kann. Der Anfänger kann diesen Apparat vollständig entbehren, er kommt wesentlich nur für feinere Untersuchungen und für starke Vergrösserungen zur Verwendung.

2. Objectivsysteme. Wasser- und Oel-Immersionen.

Was die Auswahl der Linsen betrifft, so sind erforderlich an Objektivsystemen:

1. Ein ganz schwaches, von etwa 30 mm. äquivalenter Brennweite, welches mit dem mittleren Ocular eine Vergrösserung von etwa 20 giebt; zur Totalübersicht grosser Schnitte z. B. aus Gehirn und Rückenmark, Leber, Nieren, zur Trichinenschau etc.
2. Ein mittelschwaches, von etwa 15 mm. äquiv. Brennweite zur Erzielung einer etwa 60—90fachen Vergrösserung.
3. Ein mittelstarkes, von etwa 4 mm. äquiv. Brennweite, für 300fache Vergrösserung.
4. Ein ganz starkes Immersionssystem, äquiv. Brennweite 1,5—2 mm. ($^1/_{12}$—$^1/_{18}$ Zoll) für feinere Untersuchungen.

Gewöhnlich wird für unsere Zwecke die 80fache und die 300fache Vergrösserung am meisten gebraucht werden; die Immersionslinse ist für Untersuchungen von Schizomyceten unentbehrlich.

Die Immersionssysteme[1]), welche zur Erzielung ganz starker Vergrösserungen in Anwendung kommen, erfordern in ihrer Handhabung eine gewisse Sorgfalt und Uebung. Der Anfänger wird, wie schon erwähnt, am besten thun, für die erste Zeit auf sie zu verzichten. Worauf die Vortheile der Immersion beruhen, lässt sich ohne genauere, physikalische Entwickelungen nicht auseinandersetzen; für uns mag Folgendes genügen: Bei dem Uebergange der Strahlen von der oberen Fläche des Deckglases in die Luft und weiterhin von der Luft in die untere Fläche der Objectivlinse des Mikroskops werden nur diejenigen Strahlen nicht alterirt, welche die betr. Flächen senkrecht treffen; die schief auffallenden Strahlen werden in ihrem Gange verändert, und zwar um so mehr, je spitzer der Winkel ist, in dem sie auffallen. Nennen wir nun den Oeffnungswinkel eines Objectiv-Systems denjenigen Winkel, den die von dem Objectpunkt nach dem äussersten Rande der Linse gehenden, divergirenden Strahlen (die über dem Objectiv in einem Bildpunkt wieder vereinigt werden) mit einander bilden, so ist es klar, dass dieser Oeffnungswinkel bei Trockensystemen nicht über einen gewissen Grad gesteigert werden kann, wenn die Schärfe

---

[1]) Die übliche Bezeichnung der Immersionssysteme: $^1/_{12}$, $^1/_{18}$ bezieht sich auf die äquivalente Brennweite derselben, die nach englischer Sitte in Zollen ausgedrückt wird; $^1/_{12}$ entspricht 2 mm, $^1/_{18}$ etwa 1,3 mm.

des Bildes erhalten bleiben soll[1]). Denn die peripher auffallenden, durch den schiefen Uebergang vom Glas zur Luft und von der Luft zum Glas zweimal abgelenkten Strahlen scheinen von einem anderen Punkte auszugehen, als die mehr central verlaufenden Strahlen; es kommt somit zu der sphärischen Aberration der Linse noch ein anderes Moment hinzu, welches die Ausnutzung eines möglichst grossen Oeffnungswinkels behindert. Dieser Uebelstand wird wesentlich verringert, wenn wir zwischen Deckglas und Objectivlinse eine Wasserschicht einschalten (Wasserimmersion), da ja die Differenz des Brechungsvermögens zwischen Wasser und Glas viel geringer ist als zwischen Luft und Glas; er kann aber fast ganz beseitigt werden, wenn man eine Flüssigkeit einschaltet, welche dasselbe Brechungsvermögen hat, wie die Substanz des Glases: Homogene Immersion, Oelimmersion. Man benutzt hierzu[2]) Cedernholzöl oder eine Mischung von Fenchel- und Ricinusöl; neuerdings wird auch eine Mischung von Chloralhydrat und Glycerin empfohlen. Diese Oelimmersionssysteme sind das Maximum der Leistungen unserer Optiker; durch ihre Einführung haben sich Abbe, Zeiss und Stephenson ein grosses Verdienst erworben. Mit der Vergrösserung des Oeffnungswinkels steigert sich nicht nur die Helligkeit des Bildes, sondern auch das Unterscheidungsvermögen, die sog. auflösende Kraft des Instruments auf einen Grad, der früher nicht erreicht wurde.

Die apochromatischen Objective (theils Trockensysteme, theils solche für Wasser- und Oelimmersionen) zeichnen sich vor den bisherigen Linsensystemen durch eine höhere Achromasie aus, nämlich durch die Vereinigung von 3 verschiedenen Farben des Spectrums in einem Punkt der Achse (Beseitigung des secundären Spectrums der bisherigen achromatischen Systeme) und durch die Correction der sphärischen Aberration für zwei verschiedene Farben des Spectrums. Zu den apochromatischen Systemen sind noch Compensationsoculare nöthig. Indem durch sie die Uebervergrösserung der Objective compensirt wird, erscheinen die Bilder bis zum Rande des Sehfeldes gleichmässig farbenrein.

---

[1]) Durch die sogen. „Correction" wird dieser Nachtheil wenigstens zum Theil vermieden, vgl. die folgende Anmerkung.

[2]) Es ist dies nur einer der Vortheile, welche die Immersionssysteme darbieten, ausserdem sind sie in Folge der Reflexions- und Brechungsverhältnisse lichtstärker als Trockensysteme von gleichem Oeffnungswinkel, wie man sich leicht klar machen kann. Um den Einfluss der verschieden dicken Deckgläser zu corrigiren, werden die starken Trockensysteme und Wasserimmersionen in sogen. Correctionsfassungen gegeben, welche gestatten, die Linsen, aus denen das System besteht, einander zu nähern resp. zu entfernen. Man muss dann für jede Deckglasdicke die Stellung der Correctionsschraube bestimmen, bei welcher das schärfste mikroskopische Bild zu Stande kommt. Bei der homogenen Immersion ist diese Correction natürlich überflüssig. Die Immersionssysteme mit Correction sind durch sie ganz verdrängt.

Von den Apochromaten finde ich nach eingehender Beschäftigung mit denselben die von Hartnack und Zeiss gleich vorzüglich.

Die Anwendung der Oelimmersion ist auch für einen geübten, an sauberes, subtiles Arbeiten gewöhnten Mikroskopiker nicht ohne Schwierigkeiten. Das zur Immersion dienende Cedernöl haftet oft so am Glase, dass sich bei Bewegung der Linse auch das Deckgläschen bewegt. Man wird darum besser thun, bereits fest eingekittete Präparate zu untersuchen, bei denen ja auch ein Ueberfliessen der Immersionsflüssigkeit über den Rand des Deckglases und damit eine Verunreinigung der Flüssigkeit, in welcher das Präparat liegt, vermieden wird. Man bringt einen Tropfen Wasser auf die Unterfläche des Objectträgers (wenn man mit Condensor untersucht) und einen Tropfen Immersionsflüssigkeit auf die Frontlinse. Wasser entfernt man vom Deckglase sehr leicht durch eine feine Glascapillare oder Fliesspapier. Dagegen kann der Oeltropfen nur durch mässig energisches, aber vorsichtiges Wischen oder Tupfen vom Deckglase vollständig entfernt werden; am besten benutzt man dazu ein mit Benzin angefeuchtetes Leinwandläppchen oder einen feinen Pinsel. Die Reinigung der Linsen wird ebenfalls mit feiner Leinwand ausgeführt. Beschmutzte Linsen werden mit Wasser gereinigt. Das an denselben haftende Glycerin wird mit Alcohol, Balsam mit Chloroform rasch entfernt, damit der die Objectlinsen vereinigende Balsam nicht angegriffen wird.

3. Oculare. Nebenapparate. Combinationen.

Von Ocularen benützt man gewöhnlich zwei, ein schwächeres zu gewöhnlichen Arbeiten, ein stärkeres für besondere Fälle; eines derselben enthält den Micrometer.

Von Nebenapparaten, die der Optiker liefert, sind zu nennen:

1) Ein Revolverapparat zum schnellen Wechseln der Objectivsysteme.
2) Ein einfaches Mikroskop mit grossem Tisch und grosser Oeffnung in demselben für Präparationen zur Untersuchung grosser Objecte bei schwacher Vergrösserung. Die einfachen Mikroskope von Hartnack, Zeiss und Schieck sind sehr bequem. (Fig. 3.)
3) Ein Zeichenapparat, am besten das knieförmig gebogene sog. Oberhäuser'sche Modell mit zwei Prismen.
4) Polarisationsapparat.
5) Spektroskop.

   Die beiden letzteren Apparate werden neuerdings von Schmidt und Haensch in Berlin combinirt gearbeitet.

6) Erwärmbarer Objecttisch nach Max Schultze oder nach Stricker, mit dem von Loewit angegebenen Condensor; am besten von Reichert in Wien zu beziehen, oder den Erwärmungsapparat von Dr. Israel (zu beziehen von Bénèche in Berlin).

Schliesslich geben wir einige empfehlenswerthe Combinationen für den Ankauf von mittleren Mikroskopen, da es nicht immer leicht ist, aus den Catalogen der Optiker das Nothwendige und Wünschenswerthe herauszufinden. Fast jeder Optiker hat seine eigene Nomenclatur; als Vergleichsobject bleibt nur die äquivalente Brennweite.

Dass in wissenschaftlichen Arbeiten zur Veranschaulichung der angewendeten Vergrösserung oft genug die Nummer des Objectivsystems angeführt wird, muss als Missbrauch bezeichnet werden.

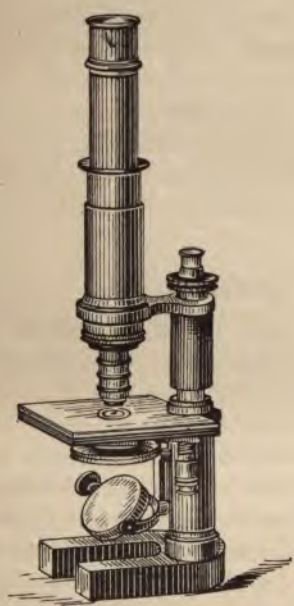


Fig. 1.
Stativ v. Hartnack IV. m. Beleuchtungsapparat. Dasselbe wird auch mit Charnier angefertigt.

Fig. 2.
Stativ V. von Zeiss mit Beleuchtungsapparat nach Abbe.

Ein mittleres Mikroskop mit Vergrösserung bis 400 zum Preise von circa 200 Mark etc.

1) L. Bénèche, Berlin, Grossbeerenstr. 55. Stativ C, Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 2. 3.
2) Hartnack in Potsdam: Stativ IV, Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 3. Wird auch mit Charnier angefertigt.

Fig. 3.
Präparirmikroskop von Zeiss.

3) Leitz, E., Wetzlar: Stativ: Mittleres Mikroskop, Systeme: 2. 4. 7. Oculare: 0. II.

4) Schmidt und Haensch, Berlin, Stallschreiberstr. 5: Stativ: Kleines Modell, Systeme: 1. 2. 4. Oculare: 0. 2.

5) Seibert in Wetzlar: Stativ V, Systeme: 1. 2. 5a. Oculare: 1. 2.

6) R. Winkel, Göttingen: Stativ V., Systeme: 1. 3. 7. Oculare: 1. 3.

7) Zeiss in Jena: Stativ VII, System: a, A, D. Oculare: 2. 4.

Kauft man zu diesen Instrumenten noch einen Abbe'schen oder dem ähnlichen Beleuchtungsapparat und eine homogene Immersionslinse oder eine apochromatische Immersion mit Correctionsocularen von $^1/_{12}$ oder $^1/_{18}$ (mit einem weiteren Aufwande von 150—400 Mark), so ist das Instrument complet.

Die homogenen Immersionen haben einen wesentlich höheren Preis als die Wasserimmersionen.

Die Optiker Zeiss, Hartnack, Seibert, Leitz liefern vorzügliche homogene Immersionen.

Weiterhin nennen wir als Mikroskopverfertiger von Ruf:

Reichert in Wien, Verick & Prazmowsky in Paris, Ross, Powell & Lealand in London, F. Koristka in Mailand.

Die als besonders „billig“ von den Fabrikanten angepriesenen Instrumente sind im Allgemeinen nicht zu empfehlen. Ein gutes Mikroskop mit Abbe'schem Apparat und homogener Immersion, wie es zur Untersuchung von Schizomyceten erforderlich ist, kostet wenigstens gegen 350 Mark.

Bestimmung der Vergrösserung des Mikroskops.

Man fixirt mit einem Auge einen durch das Mikroskop gesehenen Objectivmicrometer und blickt mit dem anderen Auge auf ein in der Objectivebene liegendes weisses Papier. Objectbild und Papier decken sich bei richtigem Fixiren. Mit den Spitzen eines Zirkels versucht man nun zwei der Theilstriche des Objectivmicrometers zu begrenzen, was jedoch nicht sogleich gelingt. Da nun die Entfernung der Theilstriche des Objectivmicrometers genau bekannt ist, erhält man die Vergrösserung des Mikroskops, wenn man die Entfernung der mit Zirkel markirten Theilstriche auf einen Massstab überträgt.

Messen.

Wir können ein Object messen, indem wir dasselbe auf einen Objectivmicrometer legen und nun die zwischen den daselbst angebrachten Theilstrichen befindlichen Räume zählen, welche dasselbe einnimmt. Beträgt z. B. die Entfernung zwischen zwei solchen Theilstrichen $^1/_{500}$ Mm. und das Object nimmt 5 solcher Räume ein, so hat es einen Durchmesser von $^1/_{100}$ Mm.

Diese Art der Messung hat jedoch manche Nachtheile. Wir brauchen mehrere dieser Messapparate, beim Reinigen derselben leiden die feinen eingeritzten Linien und werden auch leicht durch das aufliegende Object unkenntlich Wir benutzen darum jetzt ausschliesslich den Ocularmicrometer, welcher zwischen dem Collectivglas und der Ocularlinse angebracht ist.

Der Werth des Ocularmicrometers ist jedoch kein absoluter und zum Theil abhängig von der Vergrösserung der über ihm stehenden Ocularlinse, der Länge der Mikroskopröhre etc. Wir müssen darum erst denselben für die verschiedenen Linsensysteme und die verschiedene Länge der Mikroskopröhre bestimmen, und dies geschieht mit Benntzung eines Objectivmicrometers. Ist z. B. auf dem Objectivmicrometer der Millimeter in 20 Theile zerlegt, und wir sehen, dass bei einem bestimmten Linsensystem 5 Zwischenräume des Ocularmicrometers einen Raum des Objectivmicrometers, der also 0,05 mm. entspricht, ausfüllen, so wissen wir, dass 1 Zwischenraum des Ocularmicrometers für jenes System 0,01 mm. beträgt. Die Masseinheit für mikroskopische Grössenverhältnisse ist $^1/_{1000}$ Millimeter, Micromillimeter oder Mikron μ.

Zeichnen.

Jeder Mediciner sollte im Zeichnen unterrichtet sein. Der Mikroskopiker vor Allem muss zu zeichnen verstehen. Er wird sonst in ein sehr

unangenehmes Abhängigkeitsverhältniss gerathen und in seinen Arbeiten auch vielfach gehindert sein. Eine Zeichnung ist ja oft rascher ausgeführt, als eine Beschreibung zu Papier gebracht wird und sagt oft mehr als diese. Bei dem Versuch, von den mit dem Mikroskop gesehenen Gegenständen eine Zeichnung zu entwerfen, gewöhnt sich insbesondere der Anfänger daran aufmerksam zu betrachten und zu beobachten, und schon aus diesem Grunde sollten die jungen Studirenden angehalten werden, einfache Bleistiftzeichnungen von den untersuchten, mikroskopischen Objecten anzufertigen. Zudem haben wir es ja in sehr vielen Fällen mit verhältnissmässig einfachen Gegenständen zu thun, deren Darstellung im Umrisse technisch leicht ist und bald erlernt werden kann.

Für einfache Zeichnungen reicht stärkeres, nicht zu glattes Schreibpapier vollkommen aus. Für complicirtere Zeichnungen, bei deren Ausführung Correcturen nicht gut zu vermeiden sind, empfiehlt sich Watmann'sches und Bristol-Papier, und zwar die glatte Sorte.

Von Bleistiften sind die Faber'schen Patentstifte (in einer Hülse) die einzig brauchbaren, weil sie einen vollkommenen Schutz der Bleispitze bieten. Der Mikroskopiker braucht durchweg die harten Nummern, für feine Correcturen insbesondere eine sehr harte. Zum Schreiben findet eine weichere Sorte (II) Verwendung. Die Bleistifte müssen sehr spitz sein. Das Spitzen derselben schreckt den Anfänger oft von der fleissigen Benutzung des Bleies ab und ist doch bei den Patentstiften ohne jede Beschmutzung der Finger leicht ausführbar. Man bedient sich dazu kleiner Blöcke von amerikanischem Glaspapier [1]), die in verschiedenen Grössen und verschiedener Stärke in allen Handlungen von Zeichnungsmaterialien zu haben sind. Durch Hin- und Herziehen des Bleies auf dem groben Smirgelblatt erhält dasselbe die erste Spitze. Darauf wird die gleiche Procedur auf einem feinkörnigen Glaspapier wiederholt und endlich die letzte, feinste Spitze durch Reiben auf einem feinkörnigen Cartonpapier (Visitenkarte) angeschliffen. Besser noch als Glaspapier ist künstlicher Bimstein. Er ist von feinem Korn, bietet eine grössere Fläche und liegt fest. Man stellt denselben in ein Kästchen aus Carton. Weniger vortheilhaft sind die Bleistiftfeilen.

Das Zeichnen wird wesentlich erleichtert durch einen passenden Zeichentisch.[2]) Ich benutze dazu ein auf zwei Leisten horizontal befestigtes Brett, welches bis an die Platte des Objecttisches reicht. Es ist viel bequemer, einen solchen Zeichentisch von einer Grösse zu wählen, dass er ausser für das Zeichenpapier auch noch Raum für den Arm und allerlei Gegenstände bietet und auch zu anderen Arbeiten (bei Anfertigung von Präparaten) benutzt werden kann. Um den Raum auszunützen, ist unter

---

[1]) Improved Lead-Pencil-Pointer.

[2]) Mein Zeichentisch ist 10 cm. hoch, 58 cm. lang und 39 cm. breit.

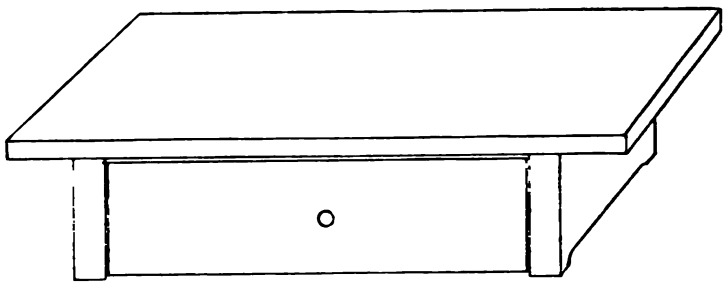


Fig. 4.
Zeichentischchen.

der horizontalen Platte des Zeichentisches ein Kästchen für Zeichenmaterial angebracht.

Links vom Zeichentisch, der leicht transportabel und auf dem grösseren Arbeitstisch seinen Platz findet, steht das Mikroskop, und links von diesem liegt ein etwas dickeres Buch zur Stütze des linken Arms.

Rechts vom Zeichentisch steht in einem Kästchen ein Stück künstlicher Bimstein oder ein Block Glaspapier zum Spitzen des Bleistifts.

Um einen Grundton herzustellen bedient man sich eines Wischers aus Papier oder Leder. Man taucht denselben in etwas Graphitpulver und vertheilt dasselbe durch Reiben über die zu deckende Fläche. Den gleichen Effekt erreicht man mit Tusche. Weitere Details in der grundirten Fläche, z. B. Körnchen, Fäserchen, werden später mit Blei oder Zeichenfeder eingetragen.

Statt des Bleis kann man sich auch häufig der Zeichenfeder bedienen und mit derselben je nach der Stärke der benutzten Tusche sehr zarte Töne erzielen. Doch können Federzeichnungen, was die Zartheit der Töne betrifft, nur selten Zeichnungen mit Blei und Tusche ersetzen.[1])

Für Herstellung von Copieen durch Zinkographie ist der Ton, welchen der Bleistift giebt, nicht tief genug. Man nimmt deshalb für diesen Zweck tiefschwarze Tusche und führt die Zeichnung mit der Feder aus. Es wäre zu umständlich, immer neue Tusche anzureiben. Man bedient sich darum der flüssigen Tusche, die in allen grösseren Handlungen von Zeichnungsmaterial zu haben ist.[2]) Bei Zeichnungen, die nicht zinkographirt werden, lassen sich durch Anwendung verschieden starker Tusche leicht die verschiedensten Töne gewinnen. Bei den für Zinkographie bestimmten Zeichnungen steht nur ein Ton zur Verfügung, und es ist darum schwer, damit

[1]) Gute Zeichenfedern sind oft recht schwer zu erhalten. Ich kann aus eigener Erfahrung die Feder No. 515, C. Brandauer & Comp. Birmingham, bei Schönfeld in Düsseldorf zu haben, bestens empfehlen.

[2]) Tusche von Schönfeld in Düsseldorf.

die verschiedensten Abtönungen zu erreichen. Man erzielt dies durch verschiedene Punkte und Linien.

Beim Zeichnen mit der Feder ist eine grosse Schwierigkeit, nämlich die Herstellung eines gleichmässigen Tones. Dieser Zweck wird bei den für die Zinkographie bestimmten Federzeichnungen dadurch erreicht, dass man die Zeichnung auf einem bereits mit einem Grundton versehenen Papier ausführt. Der Ton ist hier auf einem Gips- oder Kreideüberzug durch Pünktchen oder Striche dargestellt. Je stärker bei der photographischen Uebertragung der Zeichnung auf die Zinkplatte erstere verkleinert wird, um so mehr werden auch die Pünktchen und Striche verkleinert, und um so gleichmässiger wird der Ton. Durch Schaben an dem Ueberzug des Papiers, wodurch mehr oder weniger der helle Grund desselben freigelegt wird, lassen sich auch verschiedene Töne gewinnen. Im Allgemeinen muss aber doch als Regel gelten, dass grössere Flächen mit gleichmässigem Ton in der Zinkographie zu vermeiden sind.

Die Federzeichnungen werden durch die Photographie auf Zinkplatten copirt, oder falls sie mit autographischer Tinte ausgeführt sind, direct auf die Platte übertragen. Die photographische Uebertragung des Originals auf Zinkplatten gestattet, dasselbe in gleicher Grösse oder verkleinert wiederzugeben. Für die Darstellung mikroskopischer Gegenstände empfiehlt sich die Verkleinerung. Die Originale müssen darum in vergrössertem Massstabe (um ein Dritttheil oder die Hälfte grösser) ausgeführt sein.

Für Darstellung einfacher Figuren und selbst für manche Vollbilder verdient die Zinkographie wegen Zeit- und Arbeitsersparniss und ihrer Billigkeit wegen ausgedehnte Anwendung. Sie hat den grossen Vortheil (abgesehen von Fehlern bei der Aetzung), dass sie die Originale getreu wiedergiebt. Die Klarheit und Sauberkeit der Holzschnitte wird aber bei der Zinkographie nicht immer erreicht. Freilich liegt auch häufig die Schuld an der mangelhaften unreinen Originalzeichnung, wenn die Zinkographie rauh und unsauber geworden ist.

Zeichnungen, die für den Holzschnitt bestimmt sind, werden am besten mit dem Bleistift direct auf den Holzblock übertragen. Das Zeichnen auf demselben hat keine besonderen Schwierigkeiten. Nur sind häufigere Correcturen an der Zeichnung zu vermeiden.

Auch der geübte Zeichner wird sich Zeit ersparen durch Benutzung der Camera lucida, wenn dieselbe auch nur „zum Anlegen der Zeichnung", d. h. für Ausführung der Umrisse zu gebrauchen ist. Ich bediene mich fast nur der Camera lucida von Oberhäuser.

Diese Camera lucida ist ein mit zwei Prismen versehenes Ocular, welches an Stelle des eigentlichen Oculars gebracht und an der Mikroskopröhre durch eine kleine Schraube befestigt wird. Ueber dem senkrecht stehenden Schenkel des Apparats befindet sich ein Prisma und vor diesem im horizontalen Schenkel das Ocular mit der Collective und Linse. In

einiger Entfernung von dieser ist ein kleines Prisma angebracht. Die Lichtstrahlen gelangen durch das erste Prisma und Ocular in das kleine Prisma, wo sie in das Auge des Beobachters reflectirt und auf das horizontal liegende Papier projicirt werden. Das Auge blickt durch einen das kleine Prisma bedeckenden Ring auf das unterliegende Papier, wo es das mikroskopische Bild sieht, das in seinen Umrissen gezeichnet werden kann.

Um ein deutliches Bild des Bleistiftes zu sehen, muss die Beleuchtung sorgfältig regulirt werden und das zu bezeichnende Blatt in der Höhe des Mikroskoptisches liegen. Bei starker Vergrösserung, wenn es sich um Abbildung dunkler Präparate oder Theile solcher handelt, ist die Helligkeit der Zeichenfläche zu verringern. Ich stelle zu diesem Zweck ein Blatt Pauspapier oder je nach Bedarf ein Blatt anderen, dünnen Papiers vor die Zeichenfläche. Um bei schwachen Vergrösserungen die Bleistiftspitze deutlich zu sehen, muss die Zeichenfläche gleich hell oder heller als das mikroskopische Feld sein. Durch wechselnde Beschattung kann man sich das Zeichnen auch hier sehr erleichtern. Sehr gute Dienste leistet bei Benutzung der Camera lucida eine geschwärzte Blendscheibe (Fig. 7, S. 15).

Malen.

Farben hat der Mikrokopiker, insbesondere derjenige, welcher sich mit pathologischer Histologie beschäftigt, nur wenige nöthig. Aber diese wenigen erleichtern die bildliche Darstellung doch wesentlich. Ein Stückchen gutes Carmin, Berlinerblau, Gummigut, gebrannte Terra di Sienna und gute chinesische Tusche sind unentbehrlich, Man reibt etwas von diesen Farben auf einer kleinen Porzellanpalette an, um sie stets bereit zu haben.

II. Sonstige Utensilien.

1. Beleuchtungslampe. Schusterkugel.

Zur Beleuchtung dient stets am besten das Tageslicht, besonders wenn man es von einer weissen Wolke, etwa in der Nähe der Sonne, beziehen kann. Das directe Sonnenlicht kann nicht benutzt werden, doch ist es immer am vortheilhaftesten, den Arbeitstisch an ein nach Süden gelegenes Fenster zu stellen. Angenehm ist ein Raum mit 2 Fenstern, von denen das eine nach Norden gelegen ist. Wenn die Sonne scheint, wird ein Flügel durch einen weissen Vorhang, am besten aus Pauseleinwand (No. 6 von Bockmühl & Bergerhoff, Düsseldorf), abgeblendet, unter dessen Schatten man arbeitet; das Licht bezieht man entweder von dem Vorhang oder durch den freien Fensterflügel vom Himmel. Indessen unser an nebligen und trühen Tagen so reiches Klima nöthigt uns schon

während der Tageszeit sehr oft, besonders für starke Vergrösserungen unsre Zuflucht zu künstlichen Lichtquellen zu nehmen. Wir benutzen hierzu einfach eine Gasflamme, einen Argand-Brenner, über den ein Cylinder von Marienglas und ein Schirm von weissem Papier kommt. Man benutzt das directe Licht der Flamme und corrigirt die gelbe Farbe derselben durch einen über das Ocular oder den Spiegel gelegten Ring, der ein planes blaues Glas trägt. Indem man mehrere solche Ringe mit verschiedener Intensität des Blau vorräthig hat, kann man die Correction der verschiedenen Entfernungen, die man der Lampe giebt, einrichten, oder man stellt vor den Spiegel eine Scheibe aus verschieden blauem Glas[1]). Der Brenner ist durch einen verschiebbaren Arm an einem Stativ befestigt und steht nur etwa 20—30 cm. über der Ebene des Tisches; wenn der Schirm etwa durch ein Drahtgestell passend angebracht wird, so wird man von der Hitze der Flamme wenig oder nichts spüren, und dann ist das Arbeiten bei Gas nicht viel anstrengender als bei Tageslicht. Auch Petroleumlicht ist wohl zu gebrauchen, nur muss man darauf sehen, dass der Rundbrenner einen Durchmesser von mindestens 20 mm. hat; auch die sogen. Duplexbrenner von entsprechender Breite sind gut zu verwerthen.

Sehr zu empfehlen ist die Anwendung einer „Schusterkugel", die mit einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd-Ammoniak gefüllt ist und zwischen Lampe und Spiegel eingeschaltet wird. Man setzt einer Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd einige Tropfen Ammoniak zu, bis eine schön blaue Färbung entsteht; beim weiteren Verdünnen dieser Lösung mit Wasser tritt meist eine Trübung ein, die durch weiteres Ammoniak wieder gelöst wird. Die passende Intensität der Farbe ist sehr leicht auszuprobiren; man erhält dann ein schönes weisses Licht, das in parallelen Strahlen auf den Spiegel fällt.

Bürkner[2]) empfiehlt als Lichtquelle das Auer'sche Gasglühlicht, welches relativ weiss, intensiv und ruhig brennt. Auch die Wärmestrahlung ist geringer. Starker Gasdruck ist jedoch erforderlich.

Die Auer'sche Lampe besteht im Wesentlichen aus einem Bunsenbrenner, über welchen vorher ein zu Asche verbrannter, mit Nitraten von Cer, Didym, Lanthan, Yttrium präparirter Schlauch, der Gasglühkörper gestülpt wird. Lichtquelle ist Leuchtgas. Der Apparat kann auf jedem beliebigen Stativ oder Beleuchtungskörper eines Argandbrenners angebracht werden. (Bezugsquelle: Gasinstallationsgeschäft der Gebrüder Leister in Cassel, Preis 15 Mark, Preis des Leuchtkörpers 3 Mark.) Der Glühkörper leuchtet bis 1200 Stunden gleichmässig.

Bei starken Vergrösserungen genügt vielleicht nicht ein einzelner Leuchtkörper.

Der von Kochs-Wolz[3]) (Bonn) construirte Beleuchtungsapparat

---

[1]) Von Hartnack in Potsdam zu beziehen.

[2]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. IV, 1887. S. 35.

[3]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. V, 1888. S. 477.

besteht aus einer Lichtquelle (Petroleum oder Gaslicht), dem an der inneren Fläche eines darüber gestülpten Schornsteins angebrachten Reflector, der das Licht durch eine Oeffnung im Schornstein leitet. Die Oeffnung des Schornsteins führt in eine Röhre zur Aufnahme eines Glasstabes, welcher das Licht von der Flamme bis unter den Objecttisch führt. Das Licht gelangt mit der Intensität des Lichtes der Flamme in das Object nur vermindert um dasjenige Licht, welches durch Unreinigkeiten im Glas aufgehalten wird.

Das Licht ist gleichmässig und nicht grell und kann durch blaue Glasscheiben, die auf das unter das Mikroskop geleitete Ende des Glasstabes gelegt werden, compensirt werden.

Für starke Vergrösserung reicht jedoch Petroleum und Gasflamme nicht aus. Vielleicht dass durch Anwendung des Auer'schen Gaslichts und Correctionsgläser dieser Uebelstand gehoben wird.

Recht handlich sind die Mikroskopirlampen für Petroleum von Dr. Lassar, zu beziehen von F. W. Dannhäuser, Leipzig, Weststrasse 42, und die für Gas und Petroleum von Prof. Hartnack, Potsdam.

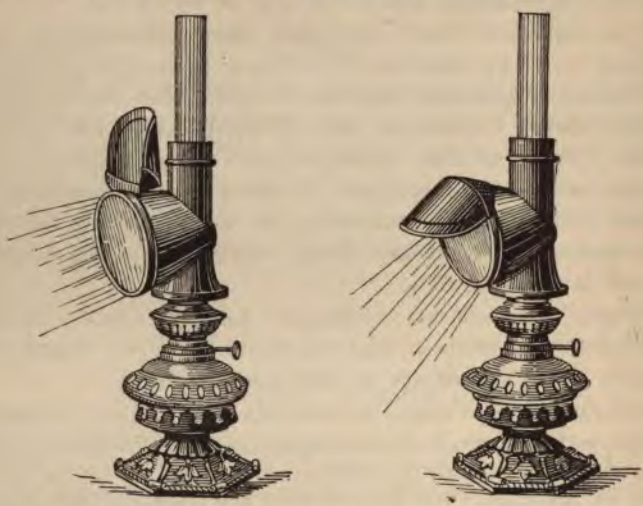


Fig. 5.
Dr. Lassar's Mikroskopirlampe.

Die Lichtquelle soll niedrig stehen und nur für das Mikroskop selbst verwendet werden; zum Präpariren etc. muss man sich anderweitige Beleuchtung schaffen.

Eine grosse Annehmlichkeit beim Mikroskopiren bietet ein Dunkelkasten oder eine Blendscheibe zur Abhaltung des unnöthigen Lichtes. Sie leisten auch besonders gute Dienste beim Arbeiten mit Gas- und Lampenlicht zur Milderung der Wärmestrahlen.

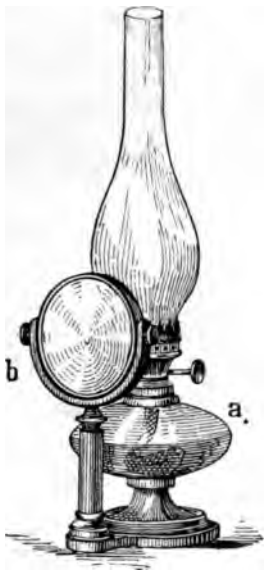


Fig. 6.
Mikroskopirlampe von Hartnack.
a) Petroleumbehälter, b) Sammellinse.

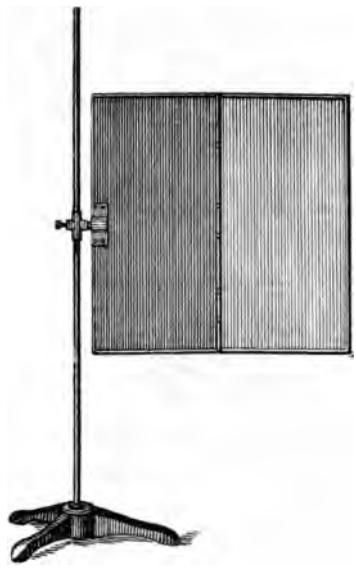


Fig. 7.
Geschwärzte Blende aus Metall.

Der Dunkelkasten ist ein viereckiger Kasten ohne Boden und ohne hintere Wand. Er besitzt in der vorderen Wand eine Oeffnung von der Höhe und Breite des Mikroskopirtisches. Statt des Dunkelkastens, der ja schon durch seinen Umfang etwas unbequem ist, bediene ich mich schon seit lange einer geschwärzten Blendscheibe, die in einer Hülse an einem Stativ in senkrechter Richtung und dann auch in querer verschiebbar ist. Durch ein Charnier lassen sich die beiden seitlichen Hälften der Blendscheibe einander nähern. Höhe des Stativs 74 cm., Breite der Scheibe 35 cm., Höhe derselben 37 cm. Die Blendscheiben sind von dem Diener des mikroskopischen Instituts in Halle zu beziehen.

2. Glasapparate und andere Geräthe.

Die Objectgläser sollen von weissem, möglichst fehlerfreien, planen Glase angefertigt werden, von bestimmter gleichmässiger Dicke und Format (am besten das englische); die Ränder abgeschliffen.

Die Deckgläschen sind ebenfalls von bestimmter, mittlerer Dicke am besten etwa 0,16 mm; manche starke Objectivsysteme verlangen besonders dünne Deckgläschen. Von sonstigen Glassachen etc. werden gebraucht:

Fig. 8.

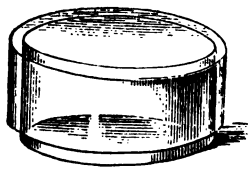


Fig. 9.

Glasdosen mit lose überfallenden Deckeln.

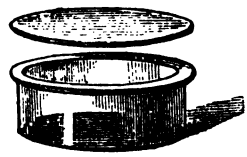


Fig. 10.
Glasdose m. aufgeschliffenem Deckel.

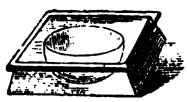


Fig. 11.
Blockschälchen aus Glas mit Deckel.

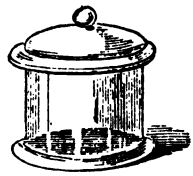


Fig. 12.
Präparatenglas.

Fig. 13.
Glasbehälter für gebrauchte Objectträger.

Fig. 14.
Glasbänkchen zur Aufnahme von Objectträgern.

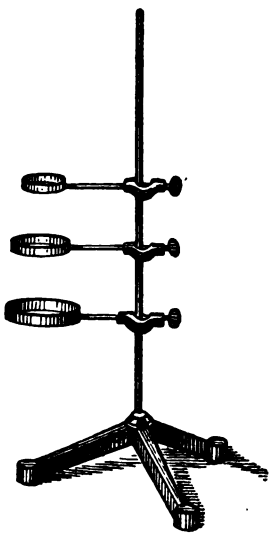


Fig. 15.
Stativ zum Filtriren der Farblösungen.

Uhrschälchen in grosser Zahl, kleinere und grössere von 7—8 cm Durchmesser,

Glasstäbe,

Glasröhren, Capillaren etc.,

Glasschalen mit flachem Boden von verschiedener Grösse,

Glasglocken,

Bechergläser, Spritzflaschen, Kolben, Reagenzgläser etc., ein Stativ mit Trichtern,

Masscylinder,

Platte von schwarzem Glas oder ein Stück schwarzes Wachstuch,

Platte von weisem Porzellan oder ein Stück steifes Papier (Visitenkarte),

als Unterlagen zum Präpariren; für weisse, resp. ungefärbte Objecte dient die schwarze Platte, dagegen manipuliren wir mit gefärbten Präparaten stets auf der weissen Unterlage.

Für Reagentien empfehlen sich Gläser mit Deckelstopfen.

Von Tropfflaschen sind solche mit Hütchen vorzuziehen.

Zum Aufbewahren von kleinen Präparaten, wie von Schnitten, sind Glasdosen mit überfallendem Deckel oder Gefässe mit Glasplatten zum Decken wegen des ungenügenden Verschlusses weniger geeignet. Hierfür empfehlen sich kleine Glasbüchsen mit eingeriebenem Stöpsel oder Glasnäpfe mit übergreifendem Deckel. Die Glasbehälter wie deren Stöpsel oder Deckel tragen eingeätzte oder eingebrannte Nummern.

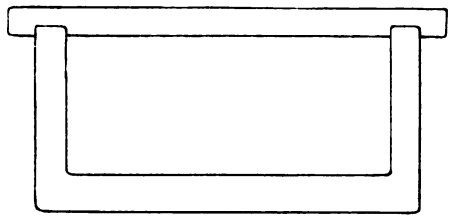


Fig. 16.
Glasdose mit aufgeschliffenem, übergreifendem Deckel.

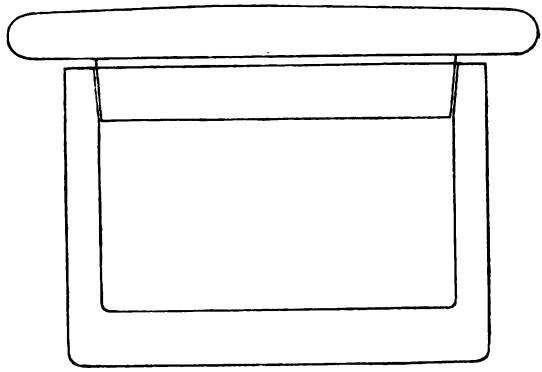


Fig. 17.
Glasbüchse mit eingeschliffenem Stöpsel.

Die Aussenfläche der Deckel und Stöpsel besitzen eine mattgeschliffene Fläche, welche mit einem gewöhnlichen Blei einige Marken anzubringen gestattet. Sonst werden sie entweder mit Etiketten[1]) versehen oder mit den Faber'schen Harzstiften[2]) bezeichnet.

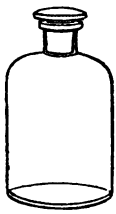


Fig. 18.
Reagenzglas m. Deckelstopfen.

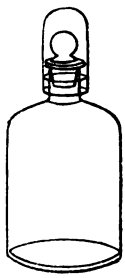


Fig. 19.
Reagenzglas mit Hütchen.

Fig 20.

Fig. 21.
Tropfflaschen.

[1]) Die Etiketten sind von verschiedener Farbe.

[2]) Die zu beschreibende Fläche muss mit Alcohol gereinigt sein.

Fig. 22.
Tropfflasche mit Pipette.

Fig. 23.
Tropfflasche mit Glashütchen.

Fig. 24.
Balsamflasche.

Für die Färbung und weitere Behandlung von Schnittserien, besonders des Gehirns und Rückenmarks, empfehlen sich die Steingutplatten von Ch. & G. Siegfried Sohn in Strassburg i. Elsass, welche verschieden grosse Zellen enthalten. Auch die für die Aquarellmalerei gebräuchlichen Einsatznäpfchen aus Porzellan oder Fayence wie die mit verschieden zahlreichen Abtheilungen versehenen Farbschalen (bei Stephan Schönfeld in Düsseldorf und in grösseren Handlungen von Malutensilien) lassen sich zweckmässig hierfür verwenden.

Sehr vereinfacht wird die verschiedene Behandlung der Schnitte, besonders wenn es sich um eine grössere Zahl handelt, durch die Benutzung der Steinach'schen Siebdosen.

Die Vorrichtung besteht aus einer äusseren, mit übergreifendem Deckel versehenen Glasdose und einer inneren aus demselben Material mit durchbrochenem Boden (Glassieb). Die Vortheile liegen auf der Hand. Man hat nicht nöthig, die Schnitte einzeln von einer Flüssigkeit in die andere zu transportiren, sie bleiben in der Siebdose und werden in dieser gefärbt, gewaschen, entfärbt, entsäuert, entwässert. Beim Färben überträgt man das die Präparate enthaltende Glassieb in eine die Farbflüssigkeit enthaltende grössere Dose. Dieselbe Procedur wiederholt man beim Auswaschen der gefärbten Präparate und dem weiteren Verfahren, wenn man nicht vorzieht, der Zeitersparniss wegen die innere Dose in einen grösseren mit Wasser gefüllten Behälter zu stellen.

Für möglichst ausgiebige Entfärbung und Entsäuerung dient die Doppeldose als Apparat für permanente Irrigation. Der Schlauch eines Irrigators oder einer Wasserleitung wird in das Glassieb geleitet, es füllt sich das ganze Gefäss mit Wasser und, da das Niveau der in der äusseren Dose befindlichen Flüssigkeit niedriger ist als die Höhe des Siebgefässes, so findet ein Ueberströmen der darin befindlichen Schnitte nicht statt und das Wasser fliesst über den Rand der äusseren Dose[1]) ab. Man kann aber auch in diese ein umgebogenes Glasrohr einsetzen und durch diesen Heber die Flüssigkeit abströmen lassen.

(Die das Sieb tragenden Füsse dürften etwas niedriger sein. Verf.)

---

[1]) Niederlage bei Siebert, Wien, Alserstrasse 19. Garnitur System I, bestehend aus einer Doppeldose und zwei inneren Dosen (4,35 Mark); Garnitur kleineren Formats 3,85 Mark.

Reinigung der Gläser.

Für den gewöhnlichen Gebrauch genügt es, die Deckgläschen und Objectträger feucht und dann trocken mit einem Tuch abzuwischen. Für manche Zwecke muss aber das Glas chemisch gereinigt werden, was durch längeres Verweilen desselben in verdünnter Salpetersäure zu erreichen ist. Gebrauchte Gläser, insbesondere solche, welche mit Canadabalsam bedeckt sind, werden in gebrauchtem Alcohol oder Xylol gereinigt.

Wρ das Ausbürsten und Ausspülen der Flaschen und Bchälter mit Wasser zum Reinigen nicht genügt, spüle man mit Salzsäure, resp. mit Kalilauge, dann mit Wasser, destillirtem Wasser und endlich mit Alcohol aus.

Glaswaaren und Farbstoffe bei F. & M. Lautenschläger, Berlin, Ziegelstrasse 24.

Apparate und Utensilien bei Dr. Herm. Rohrbeck, Firma J. F. Luhme & Comp., Berlin.

Lager von Glasgegenständen und Materialien zur Anfertigung mikroskopischer Präparate von G. König, Berlin NW., Dorotheenstrasse 35.

Gläser und Apparate bei Warmbrunn, Quilitz & Comp., Berlin C, Rosenthalerstrasse 40.

Glasgefässe bei Dr. R. Muencke, Berlin NW., Louisenstrasse 58, bei Chr. Syré, Schleusingen.

Glasgegenstände, Objectträger, Deckplättchen, Flaschen, Schalen etc. bei W. P. Stender, Dampfglasschleiferei, Th. Schröter, Leipzig; bei Vogel in Giessen.

3. Metallinstrumente.

Was die Metallinstrumente: Nadeln, Pincetten, Scheeren, Messer, Spatel[1]) etc. betrifft, so kann nicht dringend genug darauf aufmerksam gemacht werden, dass dieselben stets in absolut fehlerfreiem Zustande gehalten werden müssen. Unser Instrumentarium muss blank und schneidig wie das Operationsbesteck eines Oculisten sein.

Die zum Präpariren (Zerzupfen) dienenden Nadeln sind vor jedesmaligem Gebrauch zu schleifen und auf einem Leder oder etwas steifem, körnigem Papier zu poliren.

Der pathologische Anatom kommt häufig in die Lage, sofort eine mikroskopische Diagnose stellen zu müssen. Er kann nicht erst warten, bis durch Gefrieren und Conserviren das Präparat für das Schneiden mit dem Microtom hinreichend zubereitet ist. Er bedarf darum neben dem Microtommesser auch noch andere Schneideinstrumente: ein Rasirmesser, ein

[1]) Niederlagen von Mikroskopen und den verschiedenen für den Mikroskopiker nöthigen Utensilien und Chemikalien finden sich bei König, Berlin, Dorotheenstrasse 35.

Scalpell und feine Scheeren, Doppelmesser. Letztere kommen bei sehr weichen, frischen Organen, bei membranösen Theilen in Anwendung.

Die Scalpelle dürfen nicht, wie dies für anatomische Präparir-Uebungen ganz vortheilhaft ist, zu bauchig sein. Die Schneide muss bis nahe an die Spitze in gerader Linie verlaufen. Das Scalpell findet besondere Anwendung für kleinere und härtere Gegenstände: Verkalkungen, jungen Knochen, Nägel, getrocknete Präparate.

Für weiche oder nicht zu harte Theile ist das Rasirmesser schon bei vielen frischen Objecten zu verwenden. Man schneidet mehr durch Zug als durch Druck und nützt dabei die ganze Länge der Schneide vom Anfang bis zu Ende aus. Für kleinere Objecte sind darum kurze Microtommesser mit einer Klinge von 6 Centimeter Länge schon ausreichend, für grössere Objecte längere Messer nöthig. Die langen Klingen federn leicht und sind schwieriger zu schleifen.

Man unterscheidet hohl geschliffene, halb hohle, plan concave und plane Messer. Die beiden ersteren finden nur Verwendung bei ganz weichen Gegenständen, ihre dünne Schneide würde schnell stumpf werden und ausbrechen. Für gewöhnlich empfiehlt sich der Gebrauch eines Messers mit einer oberen concaven und einer unteren planen Fläche. Für harte Objecte ist ein Messer mit planen Flächen zu gebrauchen.

Um die Messer gehörig im Stande zu halten, sind gute Abziehsteine und Abziehriemen[1]) nothwendig. Bei zu starker Abnutzung müssen jedoch die Messer von Zeit zu Zeit durch den Instrumentenmacher geschliffen werden, da hierzu besondere Vorrichtungen nöthig sind.

Fig. 25.
Spatel zum Auffangen und Uebertragen der Präparate.

Beim Abziehen der Messer wird nicht die ganze Fläche abgeschliffen, sondern nur der scharfe Rand. Dadurch erhält man zwei Facetten. Damit diese unter spitzem Winkel zusammentreffen, schleift man die Messer hohl. Die hohlen Messer werden flach und nicht

Fig. 26.
Durchschnitte der Messerklingen a) für harte, b) für halbweiche und c) für weiche Präparate

schräg abgezogen. Bei den Messern mit planer oder planen Flächen wird, um nicht die ganze Fläche, sondern nur den der Scheide zunächst liegenden Theil abzuziehen, am Rücken des Messers ein Draht oder Stab untergelegt.

[1]) Streichriemen von Ad. Goldschmidt, Berlin, Landsbergerstrasse 72.

Soll das Messer eine scharfe Schneide erhalten, so zieht man es auf hartem Streichriemen mit fester Unterlage und nicht auf einem nachgiebigen Riemen ab. Der Rücken des Messers geht beim Abziehen voran, die Schneide folgt. Umgekehrt ist es beim Abziehen auf dem Stein Das Wenden des Messers geschieht beim Abziehen über den Rücken.

Fig. 27.
Abziehen des Messers auf dem Riemen.

Das Doppelmesser ist besonders für Untersuchung frischer Präparate vielfach im Gebrauch, man bekommt mit ihm auch von frischen, weichen Organen grosse und gleichmässige Schnitte. Indessen opfert man dabei gewöhnlich das (makroskopische) Präparat; die Organe werden mit dem Doppelmesser oft in sehr unschöner Weise zerhackt. Das Doppelmesser wird in raschem Zuge durch das zu schneidende Organ hindurchgeführt; damit die Schneide dabei nicht anstösst und Schaden nimmt, ist es gerathen, eine weiche Unterlage, beispielsweise eine frische Leber etc., zu benutzen.

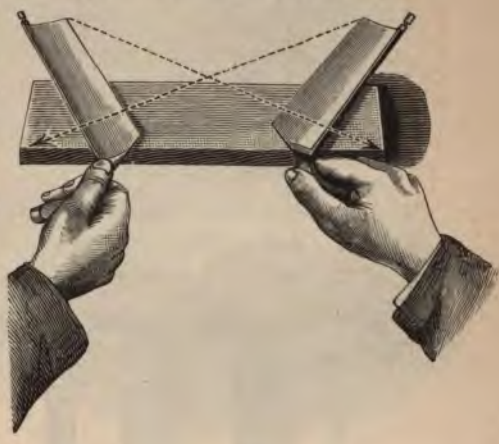


Fig. 28.
Abziehen des Messers auf dem Stein.

Der Gebrauch des Doppelmessers ist übrigens umständlich und durch das Schneiden gefrorener Objecte sehr beschränkt worden.

4. Microtom.

Kein Mikroskopiker wird heut zu Tage ohne Microtom arbeiten wollen; durch deren Einführung ist ein sehr wesentlicher Fortschritt in der Technik gemacht worden

Es wäre höchst ermüdend und ist wohl nicht erforderlich, die ver-

schiedenen Constructionen der Microtome hier aufzuführen, überdies werden in jedem Jahre mehrere neue Constructionen resp. Modificationen ersonnen. Wir können fast alle Systeme benutzen; die ganz einfachen lassen jedoch betreffs der Leistungsfähigkeit und Handlichkeit viel zu wünschen übrig. Gute Microtome werden angefertigt von:

Herrn Dr. Long in Breslau,
Instrumentenmacher Katsch in München,
Mechaniker Schanze in Leipzig (pathol. Institut),
„ Jung in Heidelberg,
Herrn Becker in Göttingen,
„ Verick in Paris,
Herren Baltzer und Zimmermann in Leipzig

und verschiedenen Anderen. Das einfachste Microtom ist das von Ranvier. Es besteht aus einem Hohlcyliuder von Metall, der eine scheibenförmige Platte trägt. Das Object ist im Cylinder durch Kork oder Hollundermark fixirt und wird für jeden Schnitt gehoben. Ein sehr bequemes Microtom ist das Schraubenschlitten-Microtom von Schanze in Leipzig. Die Anwendung des Apparats ergiebt sich von selbst; das Messer wird in einem Schlitten geführt, das Präparat dureh grobe Bewegung eines mit Kreistheilung versehenen Rades allmälig gehoben; durch Vorschieben des Messers wird dann eine der Hebung des Präparats entsprechend dicke Lamelle abgeschnitten.

Fig. 29.
Microtom nach Ranvier zum Scheiden aus freier Hand.

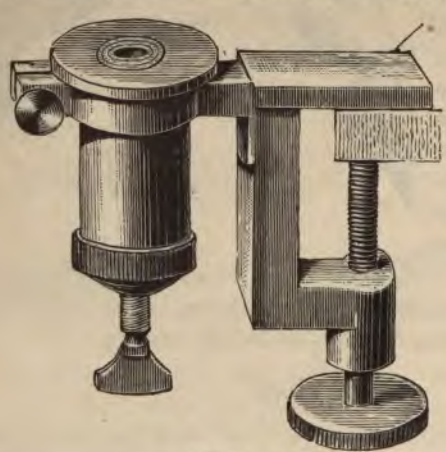


Fig. 30.
Microtom n. Ranvier mit Schraubenzwinge z. Anschrauben an den Tisch.

Die Hebung des Präparats geschieht bei den Long'schen Microtomen durch minimale Verschiebung eines Schlittens auf einer schiefen Ebene, bei den Instrumenten von Jung in sehr genauer Weise durch eine feine Micrometerschraube. Auch die Schlittenführung ist bei den Jung'schen Instrumenten ausserordentlich glatt.

Die Bewegung des Schlittens geschieht entweder mit freier Hand oder besser durch eine Kurbel.

Das zu schneidende Präparat wird in einer Klammer fixirt; man kann zu demselben Instrument verschieden grosse und verschieden gestaltete Klammern, die leicht gewechselt werden können, benutzen. Jedenfalls kommt es wesentlich darauf an, dass das Präparat ganz fest in der Klammer sitzt; sehr gebräuchlich ist es, das Präparat zwischen zwei

Fig. 31.
Microtom von Schanze, Modell A mit Gefrierapparat.

Platten gut gehärteter Leber (am besten ist Hammel- oder Amyloidleber geeignet, die in Alcohol gehärtet ist) einzuklemmen. Das gut gehärtete Präparat — eine feste, gleichmässige Consistenz ist eine nothwendige Vorbedingung für die Anfertigung guter Microtomschnitte — wird zwischen den zwei Leberplatten in die Klammer gebracht und mittelst der Schraube darin so fixirt, dass eine 1 bis 2 mm. hohe Schicht über die Klammer emporragt. Die Leberplatten wirken als Fixationsschienen, durch sie wird auch der über der Klammer befindliche Theil des Präparats genügend festgehalten. Jedenfalls muss die Fixation vollständig sein; sowie

das Präparat der schneidenden Messerklinge auch nur ein wenig ausweichen kann, werden die Schnitte unvollständig und unsicher. Statt dessen kann man auch einen Kork in der Klammer fixiren, auf dessen oberer Fläche eine mehrere Millimeter dicke Scheibe des gehärteten Präparats aufgeklebt worden ist; zum Aufkleben benutzt man dicke Gummilösung oder sogen. flüssigen Leim, beide Substanzen werden in Alkohol in kurzer Zeit vollkommen fest. Auf diese Weise verbraucht man nur wenig von dem Präparat, dasselbe ist jedem Druck entzogen, da nur der Kork eingespannt wird; das Verfahren, welches meines Wissens von Weigert herrührt, ist einfach und sehr zu empfehlen. (Ueber das Einbettungsverfahren s. u.)

Fig. 32.
Microtom von Schanze, Modell B mit Kurbel.

Die Aufklebungsmasse, deren ich mich bediene, besteht aus:

Gelatine . . . 1 Theil,
Wasser . . . 2 Theile,
Glycerin . . . 4 Theile.

Die Masse wird gekocht und durch ein grobes Filter geschickt. Der zum Aufkleben dienende Kork kommt auf 5 Minuten in Alkohol absol. Das aus Alkohol entnommene Präparat und den Kork lässt man an den zu verklebenden Flächen etwas verdunsten, trägt die (im Wasserbad verflüssigte) Aufklebemasse auf den Kork in dünner Schicht, drückt das Präparat etwas in die Masse und

lässt es etwa 5 Minuten an der Luft stehen. Trocknet das Präparat rasch, so legt man es nach 2—3 Minuten in Alkohol absol. Nach einer halben Stunde ist der Leim fest und das Präparat schnittfertig.

Ist nun das Präparat entsprechend fixirt, so wird das Messer so eingestellt, dass es mit dem Anfang der Schneide zu wirken beginnt; diese Vorschrift ist zwar selbstverständlich, indessen sieht man sehr oft dagegen fehlen; der Anfänger stösst oft mit dem stumpfen Theil der Klinge an das Präparat oder umgekehrt, er lässt die Schneide erst mit ihrer Mitte zu wirken anfangen, beides muss vermieden werden. Dann muss dafür gesorgt werden, dass das Messer unter dem möglichst günstigen Winkel an das Präparat gelangt; es soll möglichst wenig drücken, sondern hauptsächlich durch Zug wirken; es wird deshalb entsprechend der Breite des Präparats so gestellt, dass die ganze Schneide bis zu Ende ausgenutzt wird. Je schmäler das Präparat, desto weniger steil steht das Messer, und desto schonender kann der Schnitt ausgeführt werden. Beim Schneiden muss das Präparat und die Messerklinge stets reichlich mit Alkohol befeuchtet werden; der Schlitten wird vorsichtig eingeölt und zwar mit Knochenöl.

An Stelle der für gehärtete Präparate bestimmten Klammer kann man an demselben Microtom auch eine Gefrierplatte resp. Gefrierkasten einsetzen; gegen die untere Fläche derselben wird durch einen Pulverisateur Aether zerstäubt, durch dessen Verdunstung eine intensive Kälte entsteht. Eine auf die obere Fläche der Platte gelegte Scheibe irgend eines frischen Organs friert sofort an; auf diese Weise kann man von frischen Organen direct, ohne vorangegangene Härtung, sehr feine und gleichmässige Schnitte erhalten (Fig. 31).

Tauchmicrotom.

Grosse Schnitte, besonders aus dem Centralnervensystem, zerreissen leicht auf dem Messer, weil dasselbe nicht an allen Stellen gleich feucht erhalten werden kann. Dieser Uebelstand wird durch Schneiden unter Flüssigkeit (Guddensches Microtom) verhütet. Bei dem verbesserten Microtom von Gudden wird das Messer nicht über eine glatte Scheibe geführt, sondern über einen Schlitten, der ausserhalb des mit Flüssigkeit gefüllten Beckens sich befindet. Dieses Messer ist, damit

Fig 33.
Grosses Microtom nach Gudden.

Fig. 34
Kleines Microtom nach Gudden.

es über den Schlittenrand in die Flüssigkeit reicht, abgebogen. Damit wird aber die Führung desselben unsicher. Auch kann bei dem Gudden'schen Microtom das Präparat nicht, wie bei anderen Microtomen, in beliebiger Richtung fixirt werden.

Man könnte sich, um unter Flüssigkeit zu schneiden, damit helfen, dass man eines der gebräuchlichen Microtome unter Wasser oder Alkohol setzt. Aber dann braucht die Reinigung der Instrumente wieder viel Arbeit. Dies wird umgangen dadurch, dass man das Instrument umkippt und nun in senkrechter Richtung in einer mit Weingeist gefüllten Wanne schneidet, in welche Messer und Präparatenhalter eintauchen. Ein am Boden der Wanne befindliches Gefäss nimmt die vom Messer fallenden Schnitte auf. Solche Tauchmicrotome haben Schanze in Leipzig und Verick in Paris construirt.

Für Paraffin-Präparate, speciell für Serienschnitte eignen sich sehr die Microtome von de Groot[1]) und Minot[2]), letztere von Baltzar und Zimmermann in Leipzig ausgeführt.

Bei ersterem trägt ein Tisch das Paraffinpräparat, das nach allen Richtungen verstellt werden kann. Das Messer liegt horizontal. Hinter demselben befindet sich ein Bandstreifen, auf dem man mit einem Pinsel das Schnittband überträgt. Die Drehung der Kurbel bewirkt eine automatische Verschiebung von $^1/_{50}$ mm.

Bei dem Minot'schen Microtom sieht das Messer mit der Schneide senkrecht nach oben. Ueber dem Messer ist der Paraffinblock, welcher sich durch Drehung der Kurbel $^1/_{50}$—$^1/_{300}$ mm. verschiebt.

Die Befeuchtung des Messers durch einen in Alcohol getauchten Pinsel ist unbequem. Besser ist eine Spritzflasche mit Kautschukballon oder ein Tropfapparat, wie ihn Jung seinen Microtomen beigiebt.

Letzterer besteht aus einem von einem Stativ getragenen Behälter, der aus einer feinen Röhre während des Schneidens andauernd Alkohol auf das Messer träufelt (Fig. 35, L).

Die Spritzflasche hat einen langen, doppelt gebogenen Schenkel, der dicht über dem Messer mit einer spitz ausgezogenen Glaskugel endigt. Der kurze Schenkel trägt einen Gummischlauch, der in die Hand genommen, und durch den der Spiritus geblasen wird. Eine Ueberschwemmung des Präparats mit Alkohol tritt ein, wenn die Kugel leer ist und, wenn Weingeist in den langen Schenkel geblasen werden muss. Ein langsameres Abtropfen wird durch ein am Ende des langen, im Spiritus befindlichen Schenkels angebrachtes Ventil aus Kautschuk ermöglicht, welches den

---

[1]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. IV, 1887. S. 147.
[2]) Daselbst Bd. V, 1888. S. 473.

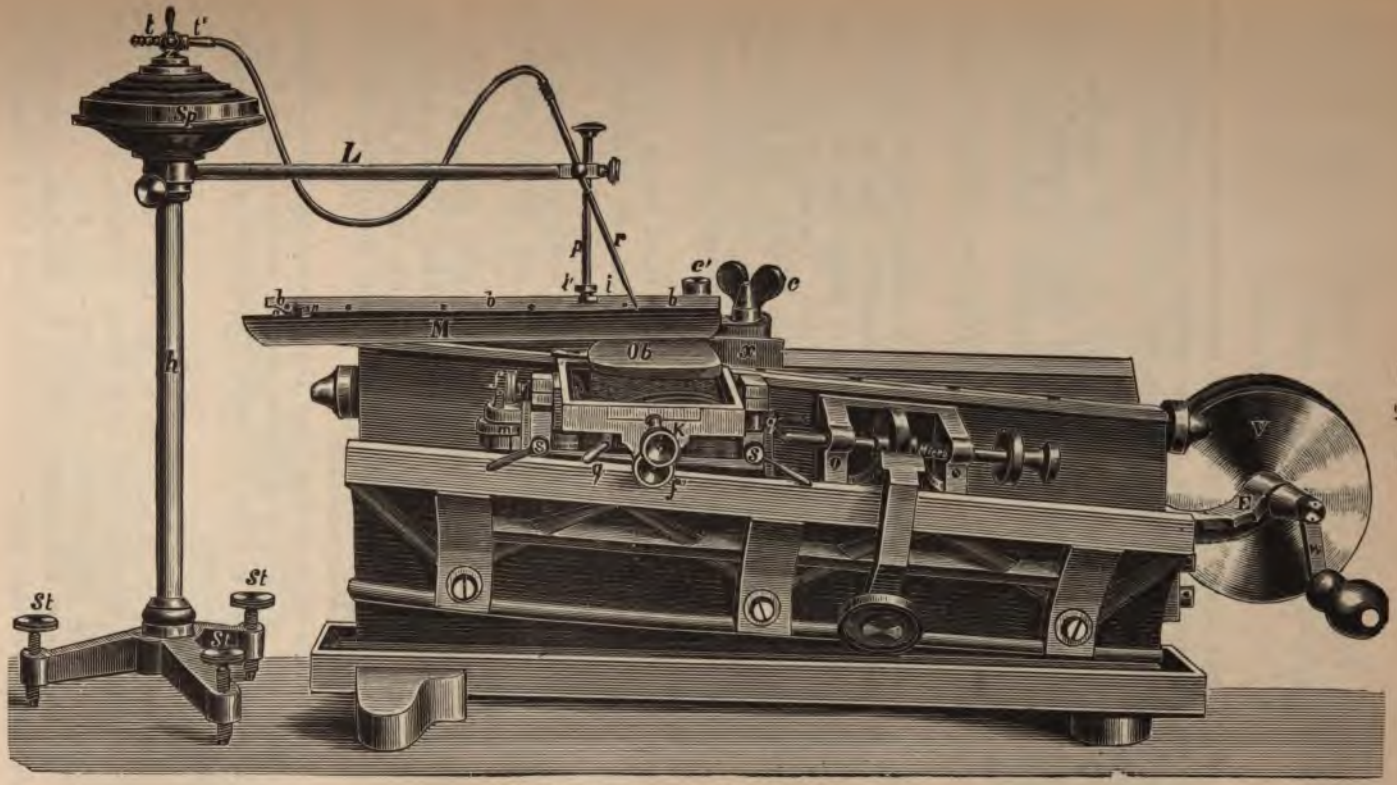


Fig. 35. Microtom von Jung mit Tropfapparat.

Eintritt von Flüssigkeit, aber nicht ein Rücklaufen gestattet. Der lange Schenkel bleibt dann stets mit Spiritus gefüllt.

Dicke und dünne Schnitte.

Die Dicke der Schnitte kann man beliebig variiren, je nachdem das Präparat mehr oder weniger gehoben wird; gewöhnlich kann man die Zahl in Hundertel Millimetern direct an der Micrometertheilung ablesen.

Der Anfänger glaubt gewöhnlich, für alle Fälle möglichst dünne Schnitte anfertigen zu müssen, während ein geübter Untersucher oft genug absichtlich mit recht dicken Schnitten arbeitet. Sehr dünne Schnitte haben folgende Nachtheile:

1. Sie sind schwer zu handhaben; es kostet oft viel Zeit, sie genau auszubreiten.
2. Kommt es oft vor, dass aus den Maschenräumen sehr dünner Schnitte die darin enthaltenen Elemente herausfallen; dies ist für unsere Zwecke oft höchst nachtheilig, da uns damit oft gerade die Dinge, auf die es uns ankommt, verloren gehen. Deshalb ist auch die in der normalen Histologie öfters geübte Procedur des Auspinselns, resp. Schüttelns der Schnitte, durch welche dicke Schnitte durchsichtig gemacht werden, bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen nur mit Einschränkung zu empfehlen.
3. Wenn man auf Elemente fahndet, die in einem Organ nur in spärlicher Zahl zerstreut sind, z. B. thierische oder pflanzliche Parasiten, so hat man naturgemäss mehr Chancen, dieselben an dicken Schnitten zu finden, vorausgesetzt, dass die Schnitte genügend durchsichtig sind und die gesuchten Elemente sich von der umgebenden Substanz gut absetzen.
4. Erhält man bei dicken Schnitten nicht selten bestimmte stereometrische Vorstellungen über die Struktur des betr. Objekts, indem man mehrere, über einander gelegene Schichten direkt in situ und in continuo durchmustert, während bei extrem dünnen Schichten lediglich Flächenbilder entstehen.

Andererseits ist es ja klar, dass viele, besonders zartere Strukturen überhaupt nur an dünnen Schichten sichtbar werden, während sie an dickeren Schnitten in Folge der vielen, übereinander gelegten Contouren vollkommen verschwinden.

Von frischen Organen kann man für die meisten Zwecke sehr gut Schnitte von 0,03 mm, ja sogar von 0,1 mm, Dicke benutzen; von gehärteten Präparaten verwendet man meist dünnere Schnitte, besonders wenn sie tingirt werden, durchschnittlich etwa 0,01—0,03 mm.

Es ist ein sehr wesentlicher Vortheil der Microtome, dass man mit ihnen jede gewünschte Dicke des Schnittes sofort mit Leichtigkeit und

in beliebiger Anzahl, gleichsam fabrikmässig herstellen kann. Man macht gewöhnlich viel mehr Schnitte, als man momentan braucht; den Rest der Schnitte hebt man für event. künftige Verwendung in einem kleinen Fläschchen, das mit Alkohol gefüllt ist, auf.

Weitere Behandlung der Schnitte.

Die Schnitte werden von der Microtomklinge (resp. dem Rasirmesser oder Doppelmesser) in ein mit Flüssigkeit gefülltes Uhrschälchen übertragen und zwar am besten mittelst eines weichen, angefeuchteten Pinsels. Die Flüssigkeit ist für frische (Gefrier-) Schnitte Kochsalzlösung, in dieser werden sie direkt untersucht; für solche von Alkoholpräparaten zunächst Alkohol, dann meist destillirtes Wasser. Bei den weiteren Manipulationen, die mit den Schnitten vorgenommen werden, können dieselben leicht zu Grunde gehen; sie müssen behufs der Einwirkung von Reagentien und Farbstoffen oft aus einem Uhrschälchen in das andere, zuletzt auf den Objektträger unbeschädigt übertragen werden. Man benutzt dazu am besten leicht gebogene, dünne Spatel (Fig. 25, S. 20), z. B. Streifen von Kupfer- oder Platinblech oder auch von vernickeltem Stahl, die vorsichtig unter den in der Flüssigkeit schwimmenden Schnitt gebracht werden; nur so kann ein feiner Schnitt ohne Faltungen heraus gehoben und in eine neue Flüssigkeit gebracht werden. Auch der Objektträger muss stets zuerst mit einer hohen Flüssigkeitsschicht bedeckt sein, ehe der Schnitt auf ihn übertragen wird; der Schnitt muss ohne jede Gewalt, nur durch leichte Flüssigkeitsströmung von dem Spatel herabgleiten. Dann wird das Deckglas aufgelegt, und die in reichlichem Ueberschuss vorhandene Flüssigkeit durch eine Capillarröhre oder durch Fliesspapier abgesogen. Das Objektglas liegt hierbei auf einer schwarzen (bei ungefärbten Objekten) oder auf einer weissen Unterlage (bei gefärbten Objekten); der Mikroskopiker behält also beide Hände frei.

Um die für diese und andere Manipulationen nothwendige Feinheit der Fingerbewegungen zu ermöglichen, stützt man den Unterarm und eventuell auch den Ulnarrand der Mittelhand fest auf die Tischplatte; mit frei gehaltenem Arme ist es sehr schwer, feine Schnitte gut zu montiren.

Die von Alkohol-Präparaten hergestellten Schnitte werden aus dem Uhrschälchen mit Alkohol in destill. Wasser übertragen; unter lebhaften Bewegungen, die durch die Diffusionsströme bedingt sind, breiten sie sich hier sehr schön aus und verwandeln sich aus dem geschrumpften, runzeligen Zustande in durchsichtige Platten. Erst dadurch werden sie zur Untersuchung geeignet; sie werden auf dem Objektträger in destillirtem Wasser ausgebreitet, das dann in den meisten Fällen durch Glycerin vom Rande her verdrängt wird. In dem zähflüssigen Glycerin lassen sich feine, grössere Schnitte weniger gut als im Wasser ausbreiten.

III. Verschiedene Vorbereitungsmethoden.

I. Das Fixiren.

Die Methode hat den Zweck, die Strukturen der Gewebselemente in dem Zustand, den sie während des Lebens hatten, zu erhalten, sie dient aber auch zur Conservirung bereits abgestorbener Gewebe, indem sie weiteren, postmortalen Veränderungen vorbeugt. In letzterem Falle fixirt man die Struktur des todten Gewebes.

Die verschiedenen Fixationsflüssigkeiten wirken meist dadurch, dass sie das Gewebseiweiss zur Gerinnung bringen, sie erhärten aber zugleich. Sie können dadurch Gewebsstrukturen vortäuschen (Chromsäure) und sind deshalb vorsichtig zu gebrauchen. Andere (Alkohol) ändern durch Wasserentziehung die Formverhältnisse.

Die Fixationsflüssigkeiten sollen eine verdünnte Säure enthalten, wodurch das Nuclein fixirt wird. Stärkere Säuren lösen dasselbe, und schwache wirken nach längerer Zeit in derselben Weise.

Das Objekt soll nur einen oder wenige Tage der Einwirkung der Fixationsflüssigkeit (je nachdem bei Lichtabschluss) ausgesetzt und dann nach Auswaschen in Alkohol von 90—100° conservirt werden.

Die Fixationsflüssigkeit muss reichlich sein und darf das Hundertfache des Volumens von dem zu fixirenden Objekt betragen. Sie wird, sobald sie sich trübt, durch neue Flüssigkeit ersetzt. Die Objekte sollen nur $^1/_2$—1 cm. Durchmesser haben. Bei grösseren Objekten wird durch Einschnitte der Fixationsflüssigkeit Zutritt verschafft.

Um eine allseitige Einwirkung der Flüssigkeit zu ermöglichen, werden die Präparate aufgehängt und über Watte, Fliesspapier, Glaswolle gelagert und öfters geschüttelt.[1])

Alkohol.

Zur Fixation dient Alkohol von 96 bis 100°. Nach wenigen, 3 bis 4 Stunden wird derselbe erneuert. Kleine Objekte von $^1/_2$—1 cm. Durchmesser sind schon nach einem Tage hart. Durch heissen Alkohol wird die Härtung beschleunigt. Der absolute Alkohol wirkt weniger schrumpfend als der starke wegen seiner mehr gerinnenden als wasserentziehenden Wirkung.

Nach Fixation können die Präparate in schwächerem Alkohol von 80—90 pCt aufbewahrt werden.

---

[1]) Da die Härtungsmittel nicht alle genau in derselben Weise wirken, ziehe ich es vor, dasselbe Object in verschiedener Weise zu behandeln, z. B. einen Theil desselben in Alkohol, den andern in Müller'scher Flüssigkeit und darauf in Alkohol aufzubewahren.

Der 60—90%ige Alkohol dient mehr als einfaches Härtungsmittel. Man bringt die Gewebe zuerst in den schwächeren Alkohol von 60—70%, erneuert denselben nochmals bis zur vollständigen Entfernung der bei der Fixatiou gebrauchten Säure und Salze und steigt bis 90 pCt.

Osmiumsäure.

Die Osmiumsäure wird durch organische Substanzen, insbesondere Fett reducirt, und das Osmium in feiner Vertheilung niedergeschlagen, wodurch die Theile gebräunt werden. Die Osmiumsäure ist im Dunkeln zu bewahren. Zur Verwendung gelangt eine Lösung von 1 Procent. Will man die Dämpfe der Säure wirken lassen, so befestigt man das Objekt mit Igelstacheln auf der unteren Fläche eines Korkes, welcher ein mit obiger Lösung gefülltes niedriges Reagenzglas schliesst. Nach einer Stunde Uebertragung in Osmiumsäure von 1 Procent. Eine 24 stündige Einwirkung der Säure (im Dunkeln) ist genügend. Darauf gutes Auswaschen in fliessendem Wasser einige Stunden, Abspülen in destillirtem Wasser und Härtung in Alkohol von steigender Concentration von 70 Procent an.

Osmiumpräparate färben sich schwer mit Carmin, am besten nehmen sie Picrocarmin an.

Picrinsäure.

Gesättigte Lösung, Dauer der Einwirkung 24 Stunden. Nach Fixation Waschen in Alkohol. Färbung mit Picrocarmin.

Picrinschwefelsäure von Kleinenberg.

100 Volumstheile gesättigte Picrinsäurelösung, 3 Volumina concentrirte Schwefelsäure werden filtrirt. Einem Volumen des Filtrats werden 3 Volumina Wasser zugefügt. Der Filterrückstand ist unbrauchbar. Die Präparate verweilen bis 6 Stunden in der Flüssigkeit, darauf kommen sie in Alkohol von 70 pCt., dann in solchen von 90 pCt., bis die gelbe Farbe verschwunden ist. Als wässerige Farblösung dient Picrocarmin, alkoholische Lösungen kommen auch in Anwendung.[1])

Chromsäure.

Reine Chromsäure zieht leicht Wasser an und ist darum wohlverschlossen aufzubewahren. Sie kommt als 0,05, 0,1—0,5 procentige Lösung in Anwendung. Dauer der Einwirkung 1—8 Tage, Ausspülen in fliessendem Wasser, dann kurze Zeit in destillirtem Wasser, in allmälig verstärktem Alkohol (im Dunkeln). Fixirt Kernfiguren.

---

[1]) Die Lösung macht das Bindegewebe etwas quellen. Für Präparate, die kohlensauren Kalk enthalten, ist die Lösung nicht anwendbar, da sich Krystalle von Gyps bilden.

Da die Chromsäure langsam eindringt, müssen die Objekte klein sein. Sie tritt in innige Verbindung mit den Geweben, und ihre Entfernung gelingt nicht ganz.

Die mit Chromsäure behandelten Präparate färben sich schwer mit Carmin. Besser tingiren sich dieselben mit Picrocarmin, Safranin, Hämatoxylin.

Chromsäure-Präparate, welche, ohne genügend ausgewässert zu sein, der Nachbehandlung mit Alkohol unterworfen werden, nehmen wegen Imprägnation mit einem feinen Niederschlag von Chromoxyd gewisse Färbungen schwer an. Man kann jedoch auch ohne genügende Auswässerung die Präparate der Alkoholbehandlung aussetzen, wenn man dieselben vor Licht schützt, und spart so die Zeit für das Auswässern (Hans Virchow) [1]).

Die Chromsalze von Kalium und Ammonium und ihre Mischungen mit anderen Salzen, wie die Müller'sche Flüssigkeit und die von Erlitzky, härten und conserviren auch ganz gut. Sie fixiren wohl das Protoplasma, aber weniger gut die Kernstruktur.

Müller'sche Flüssigkeit (siehe Microchemie).

Die Objekte kommen eine bis mehrere Wochen oder Monate in grössere Mengen der Flüssigkeit, welche mehrmals gewechselt und mit etwas Kampher versetzt wird (gegen Verschimmeln). Mehrere Stunden Auswaschen in fliessendem Wasser, Abspülen in destillirtem Wasser, Uebertragung in allmälig verstärkten Alkohol. Die Präparate werden dunkel aufbewahrt. Die Härtung erfolgt rascher bei einer Temperatur von 30 bis 40° schon in 8 Tagen beim Rückenmark, während sonst 8 Wochen nöthig sind.

Die Flüssigkeit von Erlitzky ist doppelt chromsaures Ammoniak von 2—6 pCt. Sie fixirt und härtet besser und schneller als die Müller'sche Flüssigkeit. Die Behandlung nach der Härtung ist bei beiden Flüssigkeiten dieselbe.

Fixirmischung von Kultschitzky.

In Alkohol von 50 pCt. kommt feingepulvertes doppeltchromsaures Kali und schwefelsaures Kupferoxyd ad libitum. Nach 24 Stunden löst sich ein Theil dieser Salze in absoluter Dunkelheit auf, und man erhält eine durchsichtige Flüssigkeit von gesättigt grüngelber Farbe, welcher vor dem Gebrauch Essigsäure (5 bis 6 Tropfen auf 100 Kubikcentimeter) zugefügt wird.

Je nach Grösse und Stärke des Objekts bleibt dasselbe in der Lösung 12—24 Stunden bei Lichtabschluss. Darauf kommt es in starken Alkohol 12—24 Stunden und ist dann schnittfertig.

---

[1]) H. Virchow. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. II, 1885.

Flemming's Chromosmium-Essigsäuregemisch.

Die frisch entnommenen Gewebsstücke von ½ cm. Durchmesser kommen in ein Gemisch von:

Chromsäure	1 pCt.	15	Maasstheile
Osmiumsäure	2 pCt.	4	„
Eisessig		1	Maasstheil oder weniger.

Die Menge der Osmiumsäure lässt sich auch um mehr als die Hälfte vermindern.

Die Flüssigkeitsmenge entspricht etwa dem fünffachen Volumen des Präparats. Die Stücke bleiben mindestens 1 Tag in der Mischung, können aber auch mehrere Tage, ja selbst Monate darin verweilen.

Darauf Auswaschen in gewöhnlichem Wasser 1 Stunde und mehr, Härtung während mehrerer Stunden in Alkohol absol., Färbung in Safranin und Gentianaviolett oder successive mit beiden Farbstoffen in wässeriger Lösung, Abspülen in Wasser, kurze Entfärbung in salzsaurem Alkohol 0,5 pCt., Alkohol absol., Oel, Balsam. Kerntheilungsfiguren und Nucleolen treten besonders scharf hervor.

Chromosmiumsäure (Flesch).

Osmiumsäure	1 pCt.	10	Raumtheile,
Chromsäure	1 pCt.	25	„
Destill. Wasser		65	„

Chromessigsäure.

Chromsäure	1 pCt.	25	Raumtheile.
Essigsäure	2 pCt.	50	„
Wasser		25	„

Rabl's Chrom-Ameisensäure.

Chromsäure	½ pCt.	200 gr.
concentrirte Ameisensäure		4—5 Tropfen.

Das Gemisch wird jedesmal frisch bereitet, die Objecte frisch in kleinen Stücken eingelegt, nach 12—24 Stunden in Wasser ausgewaschen, in 60—70procentigen Alkohol und nach 24—36 Stunden langsam in absoluten Alkohol übertragen. Chrom-Ameisensäure lässt die Chromatinfäden etwas quellen.

Die Rabl'sche Mischung hat (da die Osmiumsäure fehlt) vor derjenigen Flemming's den Vorzug, dass in ihr die Präparate nicht nachdunkeln.

Benda's Fixationsflüssigkeit.

Für Fixation von Protoplasma und Kernstrukturen, Conservirung des Rückenmarks und der Spinalganglien, speciell der Axencylinder, der feinsten

Fasern in grauer und weisser Substanz und zur Darstellung der Protoplasmastrukturen der Ganglienzellen und pathologischer Objekte.[1]) Für embryonale Gewebe ist das Verfahren nicht geeignet, und bei Härtung der äusseren Haut findet eine Quellung der Hornsubstanz statt.

Die Organe kommen möglichst frisch in eine Lösung der offizinellen Salpetersäure von 10 Vol. auf 90 Vol. Wasser. Nach 24, bei grösseren Objekten 48 Stunden werden sie ohne vorherige Auswaschung in eine Lösung von Kali bichromic. gegeben und zwar zuerst in eine kaltgesättigte Lösung von 1 Vol. Kali bichromic. auf 3 Vol. Wasser. Diese Lösung wird nach wenigen Stunden erneuert, und man steigt bis zu einer Concentration von 1 Vol. Kali bichromic. auf 1 Vol. Wasser. Das Eindringen der Chromsalzlösung ist durch Einschnitte zu controlliren.

Bei den meisten Organen sind mehrere Centimeter dicke Stücke in 2—3 Tagen völlig mit dem Chromsalz durchtränkt, Gehirn und Rückenmark beanspruchen bis 14 Tage. Durch Brüttemperatur wird die Durchtränkung dieser Organe beschleunigt. Nach sorgfältigem Durchwässern werden die Präparate entweder mit dem Gefriermicrotom geschnitten oder für andere Schnittmethoden vorbereitet. Paraffindurchtränkung ist wegen der Härte des Gewebes nur für kleine Stücke angebracht, Celloidin ist geeigneter.

Die Färbfähigkeit ist für alle Farbstoffe vorhanden, nur verlangsamt. Bevorzugt werden Anilinfärbungen und die fraktionirten Hämatoxylinfärbungen nach Weigert, Heidenhain, Benda.

Jodalkohol.

Jod in Alkohol dient zur Fixation der Rückenmarkselemente. Man fügt soviel Jodtinktur dem Alkohol zu, bis er eine dunkle Marsalafarbe angenommen hat. Nach einigen Tagen erneuert man den Jodalkohol.

Salpetersäure

dient zur Fixirung als 10procentige und stärkere Lösung. Auswaschen mit Wasser, Färben in Carmin.

Essigsäure

dient nur in Verbindung mit anderen Mitteln zum Fixiren (siehe oben Chromessiggemisch und Chromosmium-Essigsäure).

Ameisensäure

verhält sich wie Essigsäure (s. o. Rabl's Chrom-Ameisensäure).

Sublimat.

Concentrirte, wässerige Lösung von 2 pCt., alkoholische Lösung 3—4 pCt., Alkohol von 50—60 pCt. Die Organstücke bleiben 10 Minuten bis 24

[1]) Verhandlungen der anatom. Gesellsch., Mai 1888 u. Anatomischer Anzeiger.

Stunden in der Lösung, dann Auswaschen in Alkohol. Man kann auch etwas Essigsäure der Sublimatlösung zufügen und letztere kochend anwenden.

Platinchlorid (Merkel'sche Lösung).

Chromsäure 1 pCt.	100	Raumtheile
Platinchlorid 1 pCt. in Wasser	100	„
Destillirtes Wasser	600	„

In Platinchlorid $^1/_3$ pCt. bleiben nach Rabl die Präparate 24 Stunden, dann werden sie ausgewaschen und in Alkohol übertragen. Die Chromatinfäden schrumpfen etwas.

2. Das Kochen.

Schon früher wurde zuweilen das Kochen der anatomischen Präparate zum Zwecke histologischer Untersuchungen geübt, indessen wurde die Methode in zielbewusster Weise zuerst durch Posner[1]) (nach einer von dem verstorbenen Perls ausgegangenen Anregung) angewendet und zwar besonders zu dem Zwecke, das gelöste Eiweiss rasch und sicher in loco niederzuschlagen und dadurch kenntlich zu machen.

Die Stücke der Organe, von etwa Haselnuss- bis Wallnuss-Grösse, werden in kochendes Wasser geworfen, nach einigen Minuten herausgenommen und in kaltem Wasser abgespült; gewöhnlich haben sie dann eine mässig derbe, elastische Consistenz angenommen und können mit dem Rasirmesser direkt geschnitten werden, oder sie kommen zur vollständigen Erhärtung noch in Alkohol. Das geronnene Eiweiss tritt als eine grobkörnige Masse an solchen Präparaten sofort zur Erscheinung; ausserdem sind die meisten Conturen der Zellen etc. auffallend scharf und starr geworden.

Die Methode hat besondere Vorzüge für die Untersuchung der Nieren bei Albuminurie und von Lungenödem. Werden derartige Organe nur in Alkokol gehärtet, so gelingt es zwar auch, das körnig coagulirte Eiweiss innerhalb der Malpighi'schen Kapseln resp. der Alveolen nachzuweisen; besonders in den oberflächlichen Theilen des Präparats, die der Einwirkung des Alkohols am direktesten ausgesetzt waren; indessen geschieht dies viel vollständiger mittelst der Kochmethode, durch welche eine prompte und vollständige Coagulation in kürzester Zeit erzielt wird. Abgesehen von dieser Wirkung werden die meisten Strukturen durch kurzdauernde Einwirkung der Kochhitze nur wenig verändert.

Man kann auch die gekochten Präparate dann mit dem Gefrier-Microtom schneiden.

---

[1]) Posner, Virch. Arch. Bd. 79, S. 311.

3. Das Trocknen

der Präparate wurde früher vielfach zu dem Zwecke vorgenommen, um dieselben gut schnittfähig zu machen. Seitdem die Technik der Alkoholhärtung, eventuell bei porösen oder besonders weichen Gegenständen Imbibition mit Gummischleim, mit Photoxylin, Celloidin und Paraffin allgemein eingeführt ist, wird das Trocknen fast gar nicht mehr geübt; die Präparate schrumpfen dabei sehr stark ein, die Schnitte quellen dann im Wasser wieder auf, indessen durchaus unregelmässig.

4. Künstliche Verdauung.

Sie dient zum Zwecke der Mazeration resp. der Isolirung gewisser Gewebsbestandtheile, welche zuweilen auch für pathologische Untersuchungen, viel mehr allerdings in der normalen Histologie, Anwendung findet. Man benutzt Pepsin oder Trypsin, sogen. künstlichen Magensaft oder Pancreas-Extrakt.

Künstlichen Magensaft bereitet man am besten aus dem Fundustheil der Schleimhaut des Schweinemagens; die Schleimhautstücke werden fein zerschnitten und etwa eine Stunde lang mit stark verdünnter Salzsäure, 1 pro mille, im Brütofen bei Körpertemperatur, ausgezogen; dann wird filtrirt. Man kann auch käufliches Pepsin benutzen; jedenfalls muss man die verdauende Wirkung der Flüssigkeit an einer Fibrinflocke oder einem Stückchen von locker geronnenem Eiweiss prüfen; diese müssen in kurzer Zeit aufgelöst sein.

Das Extrakt des Pancreas[1]) wird folgendermassen gewonnen:

Das Pancreas eines frisch getödteten Rindes wird in Stücke zerschnitten und mit Alkohol oder Aether im Extraktionsapparat vollständig erschöpft; die nach dem Abdunsten des Aethers zurückbleibende, weisse, leicht zerreibliche Masse wird mit 5—10 Gewichtstheilen Salicylsäure von 0,1 pCt. oder auch mit destillirtem Wasser bei 40° C. etwa vier Stunden lang digerirt, dann colirt und filtrirt.

Der künstliche Magensaft verdaut in kurzer Zeit (bei Körpertemperatur) das Bindegewebe, die Muskelsubstanz, die meisten zelligen Elemente etc., während das elastische Gewebe, die Nervenfasern, resistiren.

Das Pancreas - Extrakt dagegen, resp. das darin enthaltene Trypsin, löst in saurer Lösung die elastischen Fasern, ebenso die feinen Fäserchen der Neuroglia, dagegen bleiben die Bindegewebs-Fibrillen intakt.

Die Verdauung kann entweder im Brütapparat vorgenommen werden, oder mittelst des erwärmbaren Objekttisches an dem mikroskopischen

[1]) Kuehne, in Verhandl. des medic.-naturf. Vereins zu Heidelberg I, 1877.

Präparat selbst unter den Augen und der fortwährenden Controlle des Beobachters.

Neuerdings ist durch Anwendung dieser Methode eruirt worden, dass die bei der Tabes in den Hintersträngen des Rückenmarks in grosser Menge auftretende, graue, feinfaserige Substanz in der That auch chemisch mit den Fasern der Neuroglia vollständig übereinstimmt; auch sie wird schnell gelöst, während die Fasern der Pia und ihrer Fortsetzungen intakt bleiben. (Waldstein und Weber[1]). Das von Kuehne sogenannte Neurokeratin widersteht der Trypsinverdauung vollständig; es bleibt im Innern der Nervenfasern zurück, wenn dieselben mit heissem Aether und Chloroform, dann mit Trypsin extrahirt werden, und zwar in Form von feinen Netzen. Die Horn-Netze wurden von Kuehne und vielen seiner Nachfolger als eine präformirte Struktur, ein „Horngerüst der Nervenfasern" angesehen; gegen diese Ansicht sprechen sich Hesse und Pertik, neuestens auch Waldstein und Weber (Schüler von Ranvier) aus.

Diese Autoren behaupten, dass das Neurokeratin ganz diffus mit dem Nervenmark vermengt sei und erst durch die Extraktions-Methoden die eigenthümliche netzartige Struktur annehme; je nach Variirung der Methode kann man auch die Form der Netze willkürlich variiren. Auch an den unregelmässig gestalteten Tropfen des ausgetretenen Nervenmarks (Myelintropfen) kann man durch die entsprechende Behandlung dieselben „Hornnetze" wie im Innern der Nervenfasern darstellen.

In degenerirten Nerven, ebenso wie bei grauer Degeneration der weissen Substanz des Central-Nervensystems geht das Neurokeratin verloren.

5. Die Entkalkung.

Um gute Schnitte durch verkalkte Partien: Knochen, Zähne, verkalkte Geschwülste etc. anzufertigen (die frühere Methode, feine Schliffe zu untersuchen, reicht für unsere Zwecke nicht aus), muss der Kalk entfernt werden. Dies geschieht am raschesten durch Behandlung der in Müller'scher Flüssigkeit und dann in Alkohol gehärteten Präparate mit verdünnter Salz- oder Salpetersäure. v. Ebner empfiehlt, um die Quellung der Grundsubstanz zu verhüten, eine Mischung von Salzsäure und kochsalzhaltigem Alkohol.

Salzsäure . . .	5,0
Alkohol . . .	1000,0
Aq. destill. . .	200,0
Chlornatrium .	5,0

Die Entkalkungs-Flüssigkeit muss oft gewechselt und in grossen

[1]) Waldstein et Weber, Arch. de physiol. norm. et pathol. II. Reihe Bd. 10. 1882. S. 1.

Mengen angewendet werden, giebt aber dann ausgezeichnete Resultate. Etwas langsamer wirkt eine Chromsäurelösung (1 pCt.) oder gesättigte Picrinsäurelösung (Ranvier).

Embryonale Knochen werden gut durch concentrirten Holzessig entkalkt; langsam vollzieht sich damit die Entkalkung bei den Knochen junger und erwachsener Thiere.

Für letztere empfiehlt sich verdünnte Salpeter- und Milchsäure, welche oft schon in einigen Tagen nicht zu grosse Stücke entkalkt.

Reine Salpetersäure . 9—27 ccm,
Aq. destill. . . . . 300 ccm.

Nach der Entkalkung ist der Knochen biegsam. Er wird mehrere Stunden (24) je nach der Grösse bis mehrere Tage in fliessendem Wasser ausgewaschen und in verstärktem Alkohol gehärtet.

Nach Andeer[1]) macht Phloroglucin mit Salzsäure in wenigen Stunden frische Knochen schnittfähig.

Die Menge der Salzsäure, welche zu der gesättigten Phloroglucinlösung zu geben ist, richtet sich nach der Härte, d. h. dem Phosphorsäuregehalt der Knochen. Die Salzsäure muss rein, aber nicht rauchend sein. Für Knochen von Säugethieren empfiehlt sich 20—40 pCt. Salzsäurezusatz.

Nach der Erweichung werden die Präparate bis zur vollständigen Entsäuerung ausgewaschen und mit den gewöhnlichen Methoden gehärtet. Der Vorzug der Methode besteht in der allerdings raschen Entkalkung ohne die starke Schädigung der Gewebe, wie dies bei Anwendung der gleichen Salzsäuremenge ohne Phloroglucin aber mit Alkohol der Fall ist. In Knochen der Neugeborenen z. B. Femur sind Knorpelzellen, Perichondrium, Knochenzellen und Markelemente noch verhältnissmässig gut erhalten, geben auch noch Färbung, doch nicht die klaren Bilder wie in Müller'scher Flüssigkeit conservirte und vorsichtig in Salpetersäure entkalkte Knochen. Der endochondrale Knochen präsentirt sich an den Phloroglucinpräparaten nicht mit der hinreichenden Schärfe, und das Blut ist sehr verändert.

Nach meinen bisherigen Erfahrungen kann ich für mikroskopische Zwecke die Entkalkung der frischen Knochen mit Phloroglucin nicht empfehlen.

Oft finden wir in mikroskopischen Präparaten dunkle Einlagerungen, die den Verdacht erregen, dass wir es mit Kalk zu thun haben. Wir überzeugen uns davon, wenn wir sehen, dass durch zugesetzte Säure der dunkele Contur schwindet; in den meisten Fällen ist der Kalk an Kohlensäure gebunden, dann tritt bei Säurezusatz eine Gasentwicklung ein.

---

[1]) Andeer, J. Das Resorcindivat Phloroglucin. Centralblatt f. d. med. Wissenschaften No. 12. 33. 1885.

Wenden wir Schwefelsäure an, so wird schwefelsaurer Kalk oder Gyps gebildet, der schwer löslich ist und bald in prismatischen Säulen, die sich oft bündelförmig an einander legen, krystallisirt. Die Gypskrystalle sind doppeltbrechend, was wir sofort mittels eines über dem Ocular angebrachten Nicol'schen Prismas erkennen.

6. Mazeration.

Nicht immer ist die Isolirung der Elemente auf einfach mechanischem Wege durch Zerzupfen, Zerfasern möglich. Man ist oft genöthigt, durch chemische Mittel die Zwischensubstanz zu lösen und zugleich die trennenden Theile zn erhärten.

Ein solches Mazerationsmittel ist der 30procentige Alkohol von Ranvier). Man stellt ihn her, indem man 30procentigen Alkohol mit dem zweifachen Volumen Wasser vermischt. Die zerkleinerten Gewebsstücke kommen auf ein bis zwei Tage in die Flüssigkeit, in der sie entweder aufgehängt oder sehr oft geschüttelt werden. Ist nach dieser Zeit die Mazeration noch nicht hinreichend weit gediehen, wird die Flüssigkeit erneuert und dann zerzupft.

Auch die verdünnte Chromsäure $^1/_2$—1 pro Mille dient zum Mazeriren. Die Präparate, besonders Hirn- und Rückenmarkstücke, bleiben mehrere Tage in derselben Lösung. Ebenso können die Chromessig- und Chromessig-Ossmiumsäuremischungen, mit dem 10—20fachen Wasser verdünnt, diesen Zweck erfüllen.

Nach guter Härtung in Müller'scher Flüssigkeit lassen sich durch Zerzupfen gleichfalls die Theile besser isoliren.

Salpetersäure (20 pCt.) und Salzsäure und Essigsäure sind zum Isoliren der Muskelfasern sehr geeignet.

Drüsenkanälchen lassen sich gut isoliren durch Einlegen kleiner Stücke (1 Centimeter Durchm.) in 10 ccm. reiner Salzsäure. Nach 10—24 Stunden kommen dieselben in destillirtes Wasser, das öfter erneuert wird. Mit Nadeln gelingt (nach etwas Glycerinzusatz zum Wasser) die Isolirung leicht.

Barytwasser ermöglicht schon nach 6 Stunden, Kalkwasser nach Tagen den Zerfall der Nerven, Muskeln und Bindesubstanzen in die einzelnen Elemente.

Kalilauge in 20—35procentiger Lösung wirkt anders als die verdünnte Kalilauge, welche die Gewebe rasch zerstört. Erstere mazerirt frische Präparate (Muskeln, Epithelien) nach 10—20 Minuten (je nach der Temperatur). Die Präparate werden in derselben Kalilauge untersucht, verändern sich jedoch bald. Wasser- oder Glycerinzusatz zerstört dieselben noch früher.

7. Das Gefrieren.

Die Gefriermethode, mag man sie anwenden auf fixirte oder nicht fixirte Präparate, stört immer durch Bildung der Eiskrystalle die feinere

Gewebsstruktur. Auch ist es nicht möglich, bei Verwendung frischer Präparate die Theile in ihrer Lage zu erhalten. Sie hat dagegen den grossen Vortheil, wenn es auf Erhaltung feiner Strukturverhältnisse nicht ankommt, dass sie in kurzer Zeit die Anfertigung von übersichtlichen Präparaten gestattet, was ja unter Umständen zur raschen Stellung einer Diagnose sehr wünschenswerth ist.

Auf einer rauhen Metallplatte, wie solche den meisten Microtomen beigegeben sind, lässt man das mit Wasser befeuchtete Object anfrieren, indem man durch den Aetherspray von unten dieselbe auf den Gefrierpunkt bringt. Die Schnitte werden frisch in Kochsalz untersucht oder gefroren, oder aufgethaut mit Alkohol fixirt. Um Faltungen derselben zu vermeiden, überträgt man sie von der Klinge in eine verdünnte Lösung Müller'scher Flüssigkeit. Alkoholpräparate werden vor dem Gefrieren in Wasser gelegt.

Hamilton (Journal of Anat. and Phys. 1878) durchtränkt vor dem Gefrieren die erhärteten Objecte mit Zuckersyrup (60 Gramm Zucker und 30 Gramm Wasser) und Cole (Methode of the microscopical Research 1884) legt die erhärteten Stücke in eine Mischung von Gummi (5 Theile) und Zuckersyrup (3 Theile) mit einigen Tropfen Carbolsäure.

Der Gummischleim wird hergestellt aus:

Gummi . . . . . 120 Gr.
Destill. Wasser . . . 180 „

Zuckersyrup wird erhalten aus:

Zucker . . . . . 372 Gr.
Warmes Wasser . . . 37 ccm.

Letzteres Verfahren, welches in meinem Laboratorium vielfach geübt wurde, ist sehr zu empfehlen.

8. Die Einbettung oder Umgiessung und die Durchtränkung und Durchschmelzung.

Die meisten unserer gehärteten Präparate schneiden wir ohne Einbettung; bei Besprechung des Microtoms haben wir auf die kleinen Kunstgriffe des Aufklebens der Präparate auf Kork, und des Einklemmens zwischen gehärtete Leberstückchen hingewiesen; hierdurch sind wir in den meisten Fällen in den Stand gesetzt, die Präparate ohne weitere Einbettung genügend zu fixiren, um vollständige und gleichmässige Schnitte derselben zu erhalten.

In anderen Fällen aber sind wir genöthigt, ein Präparat in toto zu schneiden, d. h. die sämmtlichen Oberflächen desselben mit auf den Schnitt zu bekommen, eine Aufgabe, die dem Zoologen und Embryologen sehr häufig, uns dagegen nur in besonderen Fällen gestellt wird. Das Präparat muss für diesen Zweck hinreichend fixirt sein, um es besser schnei-

den zu können. Wir umgiessen darum dasselbe mit einer erstarrenden Masse; man verwendet eine Substanz dazu, die beim Erstarren und auch bei Behandlung mit Alkohol möglichst wenig schrumpft.

Die Durchtränkung dient dazu, Präparaten von ungleicher Härte, insbesondere solchen, welche Lücken enthalten, oder aus denen Theile beim Schneiden herausfallen würden, eine gleichmässige Consistenz zu geben, wodurch nicht nur die Theile beim Schneiden in ihrer richtigen Lage erhalten werden, sondern auch die Schnittführung erleichtert wird, besonders wenn man mit der Durchtränkung noch die Einbettung oder Einfassung verbindet.

Wir besitzen dazu Massen, die beim Erkalten fest werden (Fette) — Durchschmelzung — oder solche, die in Alkohol (Leim, Gummi, Eiweiss) oder andere, welche durch Verdunstung allmälig erhärten (Seife, Celloidin).

Die bisher gebräuchlichen Einbettungs- und Durchtränkungsverfahren leiden, so gute Dienste sie in einzelnen Fällen leisten können, doch an gewissen Mängeln.

Diese bestehen darin, dass manche der zu dem Verfahren dienenden Massen bei der Nachbehandlung wieder entfernt werden müssen, wodurch Theile verloren gehen. Manche Massen sind auch nicht durchsichtig genug, um uns leicht über die Lage des Objects orientiren zu können. Wir sind dann genöthigt, durch Marken dessen Lage anzugeben oder dasselbe in bestimmter Lage zu erhalten, was wir dadurch erreichen, dass wir es mit der Nadel fixiren.

Die Einbettungsarten, welche in den letzten Jahren sich am meisten eingebürgert haben, sind die in Celloidin und Photoxylin und in Paraffin und Fettmassen. Wir wollen jedoch der Vollständigkeit halber auch die übrigen Einbettungen kurz erwähnen.

Die einfache Einbettung oder Umgiessung.

Wir umgeben bei diesem Verfahren das gut abgetrocknete Präparat mit einer erstarrenden Substanz. Hierzu dienen Mischuugen von Wachs und Oel, Wallrath, Paraffin, Stearin, Talg, Schmalz, Oel. Die Mischung wird je nach der Härte des Präparates hergestellt. Die erwärmte, flüssige Masse wird in den Cylinder des Microtoms gegossen, und das gut erhärtete, abgetrocknete Präparat darin versenkt. Nachdem die Masse erstarrt ist, entfernt man um das Präparat die Einbettungsmasse zum Theil, um nicht zu viel mitzuscheiden und schneidet unter Wasser oder mit feuchtem Messer (Oel). Dieses ist nach jedem Schnitt zu reinigen. Man nimmt z. B. eine Mischung von:

Wachs und Oel zu gleichen Theilen,

oder:

Wallrath . . . . . 2 Theile,
Ol Bergamott. . . . . 1 Theil,
Wachs, Oel, Spermacet zu gleichen Theilen,

oder:

Paraffin	5 Theile,
Wallrath	2 „
Schmalz	1 Theil,

oder:

Spermacet.	4 Theile,
Ricinusöl	1 Theil,
Talg	3—4 Theile,

oder:

Stearin	15 Theile,
Schweinefett	12 „
Wachs	1 Theil,

(Gudden's Einbettungsmasse.)

Sollte der Block der Einbettungsmasse in dem Metallcylinder nach dem Erkalten sich lockern, so überzieht man die Innenfläche des letzteren mit einer Mischung aus Wachs und Terpentin, erwärmt und schiebt den Block dann ein.

Nachbehandlung. Die Schnitte werden gefärbt, in Alkohol entwässert, in Oel und dann in Balsam übertragen.

Durchtränkung mit Gummi, Leim, Eiweiss, Seife.

Bei der Durchtränkung gehärteter Präparate[1]) mit Gummi arabicum, oder Gummi arabicum mit Glycerin und Uebertragen in Alkohol ist es nicht ganz leicht, die richtige Consistenz des Gummi zu treffen. Er wird leicht zu hart, und schädigt das Messer. Beim Entwässern schrumpfen auch die Schnitte.

Die Einbettung in Glycerinleim oder in eine Mischung von Hausenblase und Glycerin hat den Nachtheil, dass beim Ausziehen des Leimes mit warmem Wasser Theile ausfallen.

Das als Einbettungsmasse gebrauchte Eiweiss färbt sich bei der Nachfärbung mit, ist nicht mehr zu entfernen und stört durch sein körniges Aussehen.

Die Einbettung in Transparentseife hat wohl den Vorzug der Transparenz, aber den gleichen Uebelstand wie die Leimeinbettung.

Durchtränkung mit Photoxylin.[2])

Vor dem Celloidin hat das Photoxylin, eine Gattung Schiessbaumwolle, welche in der Photographie Verwendung findet, manche Vorzüge. Es löst sich leicht in gleichen Theilen Alkohol und Aether. Die Lösung und die erstarrte Masse sind ganz durchsichtig, wodurch das Orientiren erleichtert

---

[1]) Blochmann. Ueber Einbettungsmethoden. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. I. 1884.

[2]) S. Krysinki. Beitrag zur histolog. Technik. Virchow's Archiv, Bd. 108.

ist. Die Schrumpfung der Präparate ist gering, und die ganze Einbettungsprocedur kurz und einfach. Präparate von $^1/_2$ cm. Durchmesser sind nach 2 Tagen schnittfertig. Die Masse wird jedoch nicht so hart, wie Celloidin, und ist darum nur für nicht zu dünne Schnitte brauchbar. Sie giebt jedoch mit sehr schwierigen Präparaten, z. B. Placenta, noch recht dünne Schnitte.

Als Einschlussmasse verwendet man eine dünnere $^1/_2$—1 procentige und eine stärkere 5 procentige Lösung.

Die Präparate kommen aus starkem Alkohol erst in die dünne Lösung auf 24 Stunden und dann etwas länger in die stärkere. Mässige Wärme beschleunigt die Durchtränkung. Aus der dicken Lösung werden die Präparate auf Kork gelegt, wo sie durch die anhaftende Photoxylinschicht nach einigen Minuten ankleben. Darauf kommen sie in Alkohol von 70 pCt., in dem sie nach 3 Stunden erhärten. Bei Harzeinschluss wird Origanumöl angewendet.

Durchtränkung mit Collodium oder Celloidin.

Die Methode ist von Duval erfunden und von Schifferdecker vervollständigt. Wir geben im Folgenden nach der neuesten Darstellung [1]) des Letzteren, die wir vielfach erprobt haben, das Verfahren wieder. Man bereite sich zwei Lösungen des Celloidins in Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen. Die eine Lösung hat die Concentration des Collodium duplex (man kann auch Collodium duplex verwenden), die andere ist von der Consistenz eines schwer flüssigen Oels oder Syrups.

Das Präparat kommt aus Alkohol absol. in Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen und bleibt darin, bis es völlig von der Flüssigkeit durchtränkt ist, eventuell also mehrere Tage mit Erneuerung der Flüssigkeit.

Dann wird das Präparat in ein gut schliessendes Glas oder in ein Glasschälchen mit steilen Wänden und gut schliessendem Deckel übertragen, welches die dünne Celloidinlösung enthält. Je nach der Grösse des Objekts bleibt es hier Tage, Wochen und Monate bis zur vollständigen Durchtränkung.[2])

Sind in dem Präparat Hohlräume, so werden diese an einer Stelle wenigstens eröffnet, damit das Celloidin direkt eindringen kann.

Kann man annehmen, dass die gewünschte Durchtränkung eingetreten

---

[1]) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie Bd. V, 1888, S. 503.

[2]) Bei nicht genügender Durchtränkung reisst das Präparat beim Schneiden leicht in der Mitte, resp. es fallen hier Stückchen aus, oder es verändern sich auch leicht die Zellen jener Theile. Da um die Zellen herum schon Celloidin liegt, in den Zellen noch keines sich befindet, so werden die Zellen durch das beim Härten schrumpfende Celloidin gedrückt und in der Form verändert, was nie eintritt, wenn die Zellen schon Celloidin enthalten.

ist, so lässt man die dünne Collodium-Celloidinlösung langsam abdunsten, indem man z. B. unter den Deckel des Gefässes, welches das Celloidinpräparat enthält, etwas Papier schiebt, und setzt dann, der Menge des abgedunsteten Celloidins entsprechend, von der dicken Celloidinlösung zu. Sobald die Lösung in dem Gefäss mehr gallertig hart wird, ist es gut, mit einem Messer innen dicht am Glase hinzugehen und die Celloidinmasse von der Glaswand abzuheben, damit Ventilation geschaffen wird, und die Gase von den tieferen Partien einen Ausweg finden. So vermeidet man die Entstehung von Blasen. Sind solche dennoch aufgetreten, so schneidet man sie von oben her auf und giesst neue Lösung hinein, um sie auszufüllen. Auf diese Weise kann man sehr grosse Blöcke tadellos hart und blasenfrei erhalten.

Ist die Lösung endlich so weit eingedickt, dass man mit der Fingerspitze (nicht mit dem Nagel) keinen Eindruck oder kaum einen Eindruck mehr machen kann, so giesst man auf die Oberfläche des Celloidinblocks in dem Glasschälchen Alkohol von 50—70 pCt. Nach ein oder mehreren Tagen umschneidet man dann nach Abgiessen des Alkohols den Block, hebt ihn aus dem Glase heraus und legt ihn in ein Gefäss mit 50—60 procentigem Alkohol, in welchem der Block beliebig lange bleibt. Sobald er die Härte des Knorpels erreicht hat, wird er mit Celloidin auf Kork geklebt und unter verdünntem Alkohol geschnitten [1]). In Chloroform bleiben die Celloidinblöcke wohl durchsichtiger, aber die Schnittconsistenz ist nicht so angenehm wie in verdünntem Alkohol, und zum Schneiden ist wieder Alkohol von 96 pCt. anzuwenden. (Ich ziehe Alkohol von 70 pCt. vor. Verf.)

Schneiden der Celloidin-Objekte.

Die das Objekt umschliessende Celloidinschicht ist bis auf eine 1 bis 2 mm. breite Lage abzutragen. Das Messer steht spitzwinklig zur Längsachse des Microtoms und wird mit Alkohol von 70 pCt. befeuchtet.

Ganz dünne Schnitte (unter 0,01 mm.) sind von Celloidin-Objekten nicht zu gewinnen.

Weitere Behandlung der Celloidinschnitte.

Die Schnitte kommen in verdünnten Alkohol und aus diesem je nach Bedarf in andere Flüssigkeiten oder auch gleich in Wasser.

Sollen die Schnitte in Balsam aufbewahrt werden, so kommen sie

---

[1]) Ich ziehe es vor, den Celloidinblock aufzukleben, so lange die halbdurchsichtige Masse noch eine Orientirung gestattet, was nach Uebergiessen mit Alkohol von 50—60 pCt., wodurch das Celloidin etwas trüb wird, schwieriger ist. Den Block befestige ich mit dünnerer Celloidinlösung auf Kork, der $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in Alkohol absol. gelegen und sorgfältig abgetrocknet wurde. Kork und aufgeklebter Celloidinblock bleiben $^1/_4$ Stunde an der Luft, wobei die Klebmasse fester wird und kommen dann in Alkohol von 70 pCt.

schliesslich in Alkohol von 96 pCt., und auf einige Augenblicke in absoluten, aus diesem in Origanumöl (Ol. Orig. cretic.) oder Lavendelöl oder Bergamottöl oder Sandelholzöl oder Cedernholzöl (nur nicht in Nelkenöl) oder in Xylol, (in welchem sie aber leicht etwas schrumpfen, namentlich, wenn der Alkohol nicht das Wasser gründlich entfernt hat); dann folgt Einschluss in Damar- oder Canadabalsam.

Reihenfolge der Operationen bei der Celloidin-Einbettung.

1. Einlegen des Präparates in Alkohol absol.
2. Einlegen des Präparates in eine Mischung von Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen bis zur vollständigen Durchtränkung.
3. Einlegen der Stücke in dünnes Celloidin auf Tage, Wochen und Monate.
4. Abdunsten der Celloidinlösung.
5. Verstärkung der dünnen Celloidinlösung durch die stärkere Lösung.
6. Ablösung der Celloidinmasse, sobald sie gallertig geworden ist, von den Wänden des Glasgefässes.
7. Uebergiessen des Celloidinblockes mit Alkohol von 50—70 pCt.
8. Abgiessen des Alkohols nach einigen Tagen.
9. Umschneiden des Celloidinblockes.
10. Einlegen desselben in 50 bis 60 procentigen Alkohol, bis derselbe Knorpelconsistenz hat.
11. Aufkleben des Blockes auf Kork mit Celloidin.
12. Schneiden unter verdünntem Alkohol.
13. Einlegen der Schnitte in Alkohol von 96 pCt., und einige Augenblicke in absoluten.
13. Einlegen in Ol. Origan. cretic., Lavendelöl, Bergamottöl, Sandelholzöl, Cedernholzöl (nicht Nelkenöl) oder Xylol (worin sie jedoch etwas schrumpfen).
14. Damar- oder Canadabalsam.

Durchtränkung mit Paraffin.

Dieses Verfahren hat vor der Celloidineinbettung den Vorzug, dass viel dünnere Schnitte zu erhalten sind und zwar in vollkommenen Reihen. Es ist aber etwas umständlich, und die dabei nothwendige, hohe Temperatur macht eine Schrumpfung unvermeidlich.

Das Paraffin ist in kochendem Alkohol, Aether, in aromatischen Oelen, in solchen, die bei der Destillation des Petroleums gewonnen werden, in Benzin, in Chloroform, Terpentin und Xylol löslich.

Paraffinsorten.

Man wählt zwei der homogensten Paraffinsorten. Nöthigenfalls reinigt man dieselben durch Filtration. Die weichere Sorte hat einen Schmelzgrad von 45—48 ° C. und die härtere von 55—60 °. Von diesen Sorten stellt man sich nach Bedarf Mischungen her. Die härtere Mischung eignet

sich mehr für kleine Objekte und für höhere Temperaturen. Für den Winter bei einer Zimmertemperatur bis 20° C. wird eine Mischung von 36 gr. weichen und 25 gr. harten Paraffin genügen. Ist die Masse zu hart, so schneidet man in der Sonne, an der Lampe, am Ofen, und umgekehrt sucht man weichere Masse schnittfähiger zu machen durch Kälte, kaltes Wasser etc.

Man kann auch den passenden Härtegrad des Paraffins durch Mischung mit anderen Substanzen erreichen, Schmalz, Petroleumöl, Vaseline, Spermacet, Wachs. Die beiden letzteren werden auch ohne Paraffin gebraucht.

Die gehörig fixirten Theile werden in starkem und dann in absolutem Alkohol entwässert und mit einem ätherischen Oele oder sonstigen Lösungsmittel des Paraffin (Chloroform) langsam durchtränkt. Da der letzte Rest Chloroform aus dem Präparate schwer zu entfernen ist, und die Objekte in Chloroform stark schrumpfen, ist ein ätherisches Oel dem Chloroform vorzuziehen.

Die Durchtränkung geschieht allmälig dadurch, dass man das Präparat zuerst in eine Mischung von absolutem Alkohol und ätherischem Oel und dann in ätherisches Oel oder Terpentin und darauf in Paraffinchloroform (5 Thl. Paraffin, 25 ccm. Chloroform), oder in eine Mischung von ätherischem Oel und Paraffin bringt.

Dann wird das Präparat in das heissflüssige Paraffin übertragen und bleibt bis zur vollständigen Durchtränkung je nach Grösse und Beschaffenheit $^1/_2$ bis 12 Stunden darin. Die geschmolzene Masse soll nicht über 50° C. haben. Das Oel oder Chloroform wird durch das Paraffin aus dem Präparat allmälig verdrängt. Bildung von Luftblasen in diesem sind sehr störend. Man bettet darum besser im Vacuum ein.

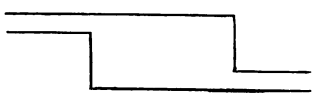


Fig. 36.
Einbettungsrähmchen von Metall.

Das geschmolzene Paraffin wird in ein Kästchen aus steifem Papier oder in ein Einbettungsrähmchen [1]) aus Metall, denen ein Objektträger oder Schale zur Unterlage dienen, gegossen, und das Objekt eingelegt. Mit Hülfe erwärmter Nadeln bringt man dasselbe in die richtige Lage. (Längsachse in der Richtung der Längsachse des Kästchens.) Rähmchen oder Kästchen werden mit kaltem Wasser umgossen, worauf das Paraffin erstarrt. Dann wird soviel Wasser zugefügt, bis das Kästchen oder Rähmchen unter Wasser kommen. Das Paraffin erhält dadurch eine mehr gleichmässige Beschaffenheit. Nach einer Stunde ist dasselbe schnittfähig. Man entfernt nun den Paraffinblock.

Weitere Behandlung der Paraffin-Präparate.

Das als Träger des Paraffinblocks dienende Tischchen des Microtoms wird erwärmt, der Paraffinblock angedrückt und so befestigt. Ist ein

[1]) Das Einbettungsrähmchen ist innen mit Glycerin befeuchtet.

Hohlcylinder zur Aufnahme des Paraffinblocks bestimmt, füllt man ihn mit festem Paraffin, erwärmt ihn, wodurch das ihn füllende Paraffin flüssig wird, uud erwärmt auch die Grundfläche des Paraffinblocks. Dieser wird dann erst auf das weiche Paraffin im Cylinder gedrückt, nachdem man durch Einstechen heisser Nadeln eine innigere Verbindung an der Berührungsfläche beider Paraffinmassen hergestellt hat. Cylinder und Tischchen kommen, um eine rasche Erstarrung zu ermöglichen, auf einige Minuten in kaltes Wasser.

Der Paraffinblock (1 cm. hoch) wird, soweit er das Objekt umgiebt, zu einer rechtwinkligen Säule mit schmalen Seiten zurecht geschnitten. Das Paraffin umgiebt das Präparat, wenigstens an den Breitseiten der Säule, nur in einer etwa 1 mm. dicken Schicht.

Schneiden der Paraffin-Objekte.

Eine Conditio sine qua non beim Schneiden der Paraffinpräparate ist die gute Consistenz derselben. Die Präparate dürfen nicht zu hart sein, was leider bei manchen (Muskeln), zum Theil durch die Beschaffenheit der Gewebe, zum Theil durch zu starke Härtung und durch die höhere Temperatur der Paraffinmasse veranlasst wird. Solche leicht zu sehr härtende Objekte wird man besser für die Celloidineinbettung verwenden.

Die Paraffinobjekte werden trocken geschnitten.

Das Messer ist schräggestellt bei grösseren Objekten in einem spitzen Winkel zur Längsachse des Microtoms, so dass es gerade eine Kante der Objekte trifft. Der Messerschlitten wird langsam und ohne Druck bewegt.

Das Messer wird quergestellt, so dass die Schneide die grössere Fläche des quergestellten Blockes trifft. Der Messerschlitten wird rasch bewegt. Hat das Paraffin die richtige Consistenz, so legt sich der Schnitt flach an und jeder folgende bleibt an dem vorangegangenen kleben. Wir erhalten ein Schnittband.

Sind die Präparate in toto nicht schon vor dem Einlegen in Paraffin gefärbt worden, so geschieht dies mit den einzelnen Schnitten nach Entfernung des Paraffin durch Terpentin, Chloroform, Benzin. Strasser empfiehlt letzteres und erwärmtes Terpentin (Wärmekasten). Aus dem Benzin oder Terpentin kommen die Schnitte auf kurze Zeit in Chloroform, aus diesem in Alkohol von 60 pCt., aus dem sie in verschiedene Lösungen übertragen werden. Nach dem Färben Auswaschen, Alkohol, Oel, Balsam.

Gang der Operationen bei der Paraffineinbettung.

A. Fixation des Präparats.
B. Allmäliges Erhärten in Alkohol von 45 pCt., 70 pCt., 90 pCt., 100 pCt:
C. Färben.

D. Wiederholung der Alkoholbehandlung in B.
E. Einlegen in Mischung von Alkohol und Terpentin und dann in reines Terpentin für grosse Objekte. Einlegen in Chloroform für kleine Objekte.
F. Einlegen in Terpentin und Paraffin für grosse Objekte. Einlegen in Paraffin und Chloroform bei kleineren Objekten.
G. Einlegen in Paraffin.
H. Erkalten.

Will man Schnittreihen fixiren, so folgt:

I. Auflegen der Schnitte auf dem mit Fixativ überzogenen Objektträger.
K. Erwärmen des Objektträgers bei 60° 10—15 Minuten.
L. Entfernung des Paraffins mit Ol. Terebinth., Chloroform oder Benzin.
M. Einlegen in Balsam.

Will man erst nach Einschmelzen in Paraffin färben, so geschieht dies nach der Operation L. Operation C und D fallen dann weg. Darauf:

Alkohol absol.
Aetherisches Oel, Balsam.

Rollen der Schnitte.

Um diesen Uebelstand bei Paraffinpräparaten zu verhüten, hat man verschiedene Vorkehrungen. Zum Theil wird er vermieden durch die passende Wahl der Paraffinsorten, insbesondere durch die Zugabe von Cedernholzöl zum Paraffin. Man hindert auch das Rollen der Schnitte durch sogen. Schnittstrecker. Diese bestehen in Vorrichtungen aus Metall, welche am Messer befestigt werden und den Schnitt leicht an die Klinge andrücken. Ein sehr einfacher Schnittstrecker ist der von Francotte. Man nimmt einen Eisendraht von circa 1 mm. Durchmesser, macht ihn auf der Weingeistlampe glühend, biegt ihn zweimal rechtwinklig und krümmt die umgebogenen Stücke noch einmal hakenförmig. Diese Haken werden am Rücken des Messers hefestigt. Das Stück A B, 10—12 mm. lang (Fig. 37), reicht bis nahe an die Schneide des Messers. Der Schnitt muss unter ihm passiren und kann sich nur unvollkommen rollen.

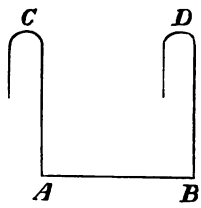


Fig. 37.
Schnittstrecker aus Draht.

Die gleichen Dienste leistet ein elastischer Pinsel, mit welchem man beim Schneiden den Schnitt leicht an die Klinge drückt, oder ein schmaler Streifen steifen Papiers, den man etwas einrollt. Mit diesem eingerollten Theil des Papiers, der leicht federt, drückt man den Schnitt an das Messer.

In ähnlicher Weise wie das Paraffin lassen sich auch Gemische erstarrender Massen zur Durchtränkung der Objekte verwenden, S. oben Umgiessen. Wir geben hier das Verfahren nach Balfour.

Die eingeschmolzenen Stücke kommen, nachdem sie in absolutem Alkohol

einige Tage gelegen haben, in Ol. Bergamottae, worin sie je nach ihrer Grösse $^1/_2$—2 Stunden bleiben. Zur Einbettung dient eine Mischung von Ol. Ricini und Cetacei $\overline{aa}$. Diese Masse wird auf dem Wasserbade geschmolzen, und in die flüssige, nicht zu heisse Masse kommen die Stücke $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde. Darauf werden sie in beliebiger Weise eingeschmolzen.

Die Einbettungsmasse wird unter Terpentin mitgeschnitten. Zur Entfernung derselben kommen die Schnitte in rectificirtes Terpentin, dann in absoluten Alkohol u. s. w. Die Methode empfiehlt sich für brüchige Präparate.

Serienschnitte.

Nicht nur für den Embryologen, sondern auch für den Pathologen ist die Herstellung einer ununterbrochenen Schnittreihe oft nöthig, wo es sich darum handelt, die Lageverhältnisse der Theile in verschiedenen Gegenden, die Ausbreitung eines Processes, die Entwicklung einer Neubildung zu studiren. Zu dem Zweck ist es angenehm, die aufeinander folgenden Schnitte auf dem Objektträger, sei es einzeln, sei es in sogenannten Bändern, ordnen, fixiren und unter Umständen sogar erst nachträglich färben zu können. Selbstverständlich kann es sich bei einer derartigen Ordnung nur um kleinere und mittelgrosse Objekte handeln. Für grössere Objekte wird es nöthig, die einzelnen Schnitte getrennt zu behandeln. Es empfehlen sich dafür die erwähnten Fayenceplatten von Siegfried Sohn in Strassburg, welche eine verschiedene Zahl von Kammern für die Schnitte enthalten. Siehe Geräthe S. 18.

Schnittserien von Celloidinpräparaten.

Will man die Schnitte als Serienschnitte in Balsam oder Glycerin auf dem Objektträger geordnet aufbewahren, so übergiesst man diesen mit einer dünnen Collodiumschicht, lässt diese trocknen und ordnet dann auf ihr die aus 96procentigem Alkohol kommenden Schnitte in dünnem Alkohol, oder man legt dieselben einfach auf den Objektträger.[1]) In beiden Fällen lässt man den Alkohol soweit abdunsten, dass die Schnitte nur noch feucht sind und setzt den Objektträger dann Aetherdämpfen aus. Es geschieht dies in der Weise, dass man entweder die Fläche des Objektträgers, auf der die Schnitte sich befinden, mit den Schnitten nach unten, auf die breite Oeffnung eines Aetherglases oder eines Schälchens mit Aether legt oder, was noch besser ist, man nimmt einen weiten Präparatencylinder, stellt in diesen einen Tisch, dessen Platte aus einem durchbrochenen Blech oder einem feinen Siebe, Drahtnetze, besteht, giesst auf den Boden des Cylinders Aether und legt nun die Objektträger auf den Tisch mit der

[1]) Summers, H. E. New Method of fixing sections to the slide. (Americ. monthly Journ. Vol. VII. 1887 und Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie Bd. IV. 1887.)

Objektseite nach oben. Dann schliesst man den Cylinder und kann nun die Präparate beliebig lange in den Aetherdämpfen lassen.

Das Anbringen eines Collodiumhäutchens auf dem Objectträger empfiehlt sich dann, wenn die Schnitte auf dem Objectträger erst gefärbt werden. Will man aber gefärbte Schnitte in Balsam legen, so genügt das kürzere Verfahren. Schnitte, die auf dem Objectträger behandelt werden, müssen alle Manipulationen langsamer durchmachen als freie.

Statt des Balsams ist auch Glycerin als Conservirungsmittel zu verwenden.

Für Schnittserien des Centralnervensystems[1]) ist die Durchtränkung mit Paraffin schon wegen der Grösse mancher Objekte nicht anwendbar. Wir sind darum auf Celloidinpräparate angewiessen. Die einzelnen Schnitte lassen sich aber nur mit Zeitverlust der Weigert'schen Hämatoxylinbehandlung unterwerfen, und es ist darum sehr angenehm, wenn diese an den bereits auf Glasplatten fixirten Schnittserien vorgenommen werden kann. Ein solches Verfahren verdanken wir dem zuletzt genannten Forscher.

Man übergiesst die Objektträger (oder grössere Glasplatten) mit Collodium und lässt sie trocknen.

Die Schnitte werden vom Messer nicht mit dem Pinsel oder Nadeln abgenommen, sondern sogleich in Bandform gebracht. Dazu dient poröses, zähes Papier, welches durch den Alkohol durchscheinend wird (Closetpapier). Von diesem Papier werden schmale Streifen etwa von der doppelten Breite der Schnitte geschnitten. Mit einem solchen Streifen nimmt man die Schnitte vom Messer in der Weise, das man unter leichter Anspannung des Papiers dieses auf den Schnitt legt und dann in der Richtung der Messeroberfläche nach links hin (aber über die Schneide des Messers hinaus) wagerecht oder ein ganz klein wenig nach aufwärts abzieht. Liegt der Schnitt mit seinem linken Rande nicht dicht an der Messerschneide, so schiebt man ihn mit einem zarten Pinsel dahin. Mit einem solchen verbessert man auch die Stellung des Präparates, ehe man das Papier darauf bringt. Das Abziehen des Schnittes gelingt nur dann gut, wenn derselbe nicht in gar zu viel Spiritus schwimmt. Man macht nun einfache Schnittreihen auf dem Papier und zwar so, dass der nächste Schnitt immer an die rechte Seite des vorhergehenden kommt.

Die Reihe der Schnitte, die man auf einen Streifen bringt, darf nicht grösser sein als die Länge der präparirten Glasplatten. Will man die Schnitte später unter Deckgläschen ausbreiten, so thut man gut, sie sogleich in Gruppen abzutheilen, die der Grösse der Deckgläser entsprechen, und zwischen den Gruppen einen breiteren Raum zu lassen.

Sehr wichtig ist es aber, die Papierstreifen mit den Schnitten sowohl

[1]) Weigert. Ueber Schnittserien von Celloidinpräparaten des Centralnervensystems zum Zwecke der Markscheidenfärbung. Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie, 2. Bd. 1885. S. 490.

während des Schneidens der nächsten Präparate als auch später, wenn die Streifen voll sind, bis zum Ende der Procedur überhaupt feucht zu halten. Zu diesem Zweck stellt man neben das Microtom einen flachen Teller, auf welchem sich mehrere Lagen Fliesspapier befinden, die gut mit Spiritus durchfeuchtet und mit einer Schicht Closetpapier bedeckt sind. Unter den Papierlagen kann wohl noch etwas freier Spiritus sein, an der Oberfläche jedoch nicht, doch muss letztere stets überall recht feucht sein. Auf diese legt man die Papiere so hin, dass die Schnitte nach oben sehen, und der Streifen der Unterlage gut anliegt. Die Schnittbänder können so stundenlang liegen, wenn nur die Unterlage immer feucht ist. Die Bänder müssen, wenn man deren mehrere benützt, in der richtigen Reihenfolge liegen, das erste Band oben, der erste Schnitt links.

Auf die collodiumbekleideten Glasplatten übertrage man nur 1—2 Schnittreihen. Damit dies ohne Schaden für diese und ohne Beeinträchtigung ihrer Lage geschehen kann, muss auf der Schnittseite der Papierstreifen genügende Feuchtigkeit sein. Man legt diese Seite auf die angetrocknete Collodiumschicht und drückt von der anderen Seite ganz sanft den Streifen an die Glasplatte an. Zieht man vorsichtig den Papierstreifen ab, so bleiben die Schnitte an der Collodiumschicht haften. Durch Auflegen einer einfachen Lage von Fliesspapier entfernt man die Flüssigkeit um die Schnitte. Man hüte sich jedoch, die Schnitte ganz vertrocknen zu lassen.

Zweite Collodiumschicht.

Bevor man noch die Papierstreifen entfernt, hat man die Collodiumflasche eröffnet und giesst nun eine dünne und gleichmässige Schicht sogleich über die Schnitte hinweg. Die Platte wird darauf auf die Kante gestellt.

Ist die Collodiumschicht oberflächlich trocken, so kann man die Reihenfolge der Schnitte durch einen feinen, in Methylenblau getauchten Pinsel beliebig markiren.

Färben und Differenziren.

Die leicht getrocknete Platte kann man direkt in die Farbflüssigkeit bringen. Will man mit der Färbung warten, so legt man die Collodiumplatten in 80procentigen Alkohol.

Im Hämatoxylin löst sich bald die Collodiumschicht sammt den Schnitten von der Unterlage ab. Die Schnitte bleiben aber in der Reihenfolge und färben sich sehr gut. Die Collodiumplatten, welche die Schnitte einschliessen, sind sehr zähe. Man kann die Glasplatte unbesorgt herausnehmen und die Collodiumschichten allein in der Farbflüssigkeit lassen.

Die Färbung, Auswaschung etc., findet in der gewöhnlichen Weise statt. Nach der Differenzirung mit Blutlaugensalz lasse man die Schnittreihen mindestens 1 Stunde in mehrfach erneuertem Wasser.

Einlegen der Schnittreihen.

Die abgelösten Collodiumplatten oder Stücke solcher kommen in 90 bis 96procentigen Alkohol (nicht in absoluten).

Zur Aufhellung empfiehlt sich mehr das Creosot als Xylol oder Benzin und Alkohol. Die Serien müssen in demselben aber länger verweilen als die Schnitte allein.

Die in Carbolxylol auf dem Objektträger liegenden Celloidinschnitte werden nach Aufsaugung des Ueberschusses durch aufgelegte Fliesspapierbäusche getrocknet und gleichmässig an den Objektträger angedrückt. Dann giesst man eine dünne Schicht von photographischem Negativlack darauf und lässt diese trocknen. Leichtes Erwärmen beschleunigt dies. Sobald die erste Schicht trocken, kommt eine zweite dünnere darauf. Man wiederholt dies, bis der Lack glänzend bleibt. Drei Schichten genügen meist. Will man mit Oelimmersion untersuchen, so bringt man einen Tropfen Wasser auf die Lackschicht und darauf ein Deckplättchen. (Für Schnitte, die mit Anilinfarben gefärbt sind, eignet sich das Verfahren nicht, Carbolxylol zerstört sie.[1])

Apathy[2]) überträgt die bereits gefärbten Celloidinschnitte auf einen, mit Bergamottöl befeuchteten Streifen Pauspapier. Man lässt das Oel abfliessen, dreht das Papier um, glättet den Streifen, legt die Seite mit den Schnitten auf einen gut abgetrockneten Objektträger und trocknet den Streifen mit Löschpapier, indem man ihn sanft an das Glas drückt. Nun löst man den Streifen Pauspapier, drückt die Schnitte mit einem Streifen glatten Löschpapiers an und fügt Canadabalsam zu.

Serienschnitte von Paraffin-Präparaten.

Zur Fixirung der Schnitte oder Schnittbänder auf dem Objektträger hat man verschiedene Klebemassen empfohlen: Schellack in Alkohol[3]), Eiweiss[4]), Collodium und Nelkenöl[5]), Collodium und Ricinusöl[6]), Kautschuk in Benzin[7]), Gummi arabicum[8]), Gelatine[9]), Guttapercha[10]), Schel-

---

[1]) C. Weigert. Ueber Aufbewahrung von Schnitten ohne Anwendung von Deckgläschen. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. IV, S. 209. 1887.

[2]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. V. 1888.

[3]) Giesebrecht, Zoologischer Anzeiger No. 92. 1881.

[4]) Meyer, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. V. Bd. 1885.

[5]) Schällibaum. Archiv f. mikroskopische Anatomie. XXII. Bd. 1883.

[6]) Strasser, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. V. Bd. S. 444.

[7]) Threlfall, Zoologiseher Anzeiger. 1883.

[8]) Flögel.

[9]) Francotte, Manuel de technique microscopique. S. 328. Poli, Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. V. 1888.

[10]) Frenzel. Zoologischer Anzeiger No. 130. 1883.

lack, Collodium und Nelkenöl[1]), Gummi, Chromalaun und Glycerin[2]), Quittenschleim[3]). Nicht alle eben aufgezählten Methoden erfüllen ihren Zweck. Bei einigen ist eine nachträgliche Färbung der Schnitte in wässerigen Farblösungen unmöglich, weil die Klebmasse darin sich löst. Andere Fixative lösen sich wieder in Alkohol, andere färben sich etc.

In Folgendem seien einige der einfacheren Methoden kurz beschrieben.

Bei vorgefärbten Stücken, die jedoch für den pathologischen Anatomen nur wenig in Betracht kommen, macht man mit einem kleinen Pinsel so viele, zarte Striche von eben geschmolzener Glyceringelatine (1 Theil Gelatine, 6 Theile destillirtes Wasser und eben so viel Glycerin) auf den Objektträger, als man Präparate einzuschliessen wünscht. Mit dem Pinsel werden die Präparate auf die Gelatinestücke übertragen und leicht angedrückt. Auch Gummi arabicum 1 zu 20 Wasser lässt sich in der gleichen Weise wie Leim benutzen. Ist die Gummischicht trocken, wird sie leicht angehaucht.

Der Unterguss von P. Mayer besteht aus gleichen Theilen Glycerin und rasch filtrirtem Hühnereiweiss, dem etwas Salicyllösung oder Campher oder Carbolsäure zugesetzt ist. Man überzieht damit in dünner Schicht einen gut gereinigten Objektträger, breitet die Schnitte darauf aus und lässt den Objektträger einige Minuten im Brütofen. Derselbe lässt sich mit Terpentin, Alkohol, Wasser, Farbflüssigkeiten, Glycerin behandeln, ohne dass eine Ablösung der Schnitte erfolgt.

Bei der Methode von Giesebrecht wird der Objektträger mit einer Lösung von weissem Schellack in Alkohol überzogen. Nach Verdunsten des Alkohols wird die Schellackschicht mit einer zarten Lage von Creosot oder Nelkenöl überdeckt, die Schnitte werden aufgelegt, Creosot oder Nelkenöl werden verflüssigt bei einer Temperatur unter 60°, das Paraffin mit Terpentin entfernt und in Balsam eingeschlossen.

Oder man überzieht den Objektträger mit einer Klebemasse aus

Collodium . . .	2	Volumina,
Aether	2	„
Ricinusöl . . .	3	„

Die Schnitte werden glatt aufgelegt, man wartet, bis die Schnitte gehörig durchfeuchtet sind, streicht mit einem Pinsel eine Schicht Klebemasse über dieselben aus; Terpentinbad, Chloroform, Balsam (Strasser)[4]).

Für die weitere Behandlung der auf Objektträger geklebten Schnitte empfiehlt Strasser niedrige Blechschalen mit siebartig durchlöchertem Boden,

[1]) Leboucq, Société de Médecine de Gand. 1884.

[2]) Frenzel, American. Naturalist. 1885.

[3]) Born und Wieger, Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. II. Bd. 1885.

[4]) Sollten sich die Parafffnschnitte etwas rollen, so bringt man den Objektträger in die Nähe einer Flamme, worauf sie sich wieder ausbreiten.

von denen jede gerade einen Objektträger fasst, während 6 Stück zusammen nebeneinander gerade in eine grössere, flache Schale hineinpassen.

Nach dem Verfahren von Schällibaum wird der Objektträger mit einer Lösung von Collodium und Nelkenöl 1 : 3—4 Theile überzogen, die Schnitte in der Reihenfolge aufgelegt, Paraffin wird mit Terpentin entfernt, erwärmt bis das Nelkenöl zu Tropfen zusammengeflossen ist. Es genügt, einige Sekunden oder $^1/_2$ Minute den Objektträger über die Flamme zu bewegen.

Soll die Färbung auf dem Objektträger vorgenommen werden, so lässt sich das Verfahren von Schällibaum oder die von Strasser empfohlene Modification desselben anwenden. Nach Entfernung des Paraffins durch Terpentin wird dieses mit absolutem Alkohol ausgezogen, darauf folgt verdünnter Alkohol, dann Farbflüssigkeit, Alkohol, Alkohol absol., Oel, Balsam. Einen anderen Unterguss für Anfertigung von Serienpräparaten empfehlen Born und Wieger.[1])

Zwei Volumina Quittenschleim werden mit einem Volumen reinen Glycerins vermischt und etwas Carbolsäure zugefügt.

Dem in Seifenwasser gereinigten und dann getrockneten Objektträger wird in dünner Schicht die Klebemasse aufgetragen. Die Schnitte werden aufgelegt, der Objektträger kommt in den Trockenschrank bei 30—40° C. 20 Minuten. Das Paraffin breitet sich bei dieser Temperatur aus. Das Wasser verdunstet. Man löst das Paraffin in Terpentin, darauf kommt der Objektträger in absoluten Alkohol ($^1/_2$ Stunde). Durch den Alkohol wird der Schleim gefällt, welcher das Kleben ermöglicht, und das Terpentin und Glycerin ausgezogen.

Die Objektträger können nun gefärbt werden. Sie dürfen aber nicht sofort aus reinem Alkohol in eine wässerige Flüssigkeit übertragen werden, sondern passiren erst 50procentigen Alkohol.[2])

Schnittbänder.

Beim Microtomiren von Paraffinpräparaten haften oft die Schnitte in der Reihenfolge, wie sie angefertigt wurden, mit ihren zusammenstossenden Rändern wie die Glieder eines Bandwurms aneinander (Schnittband).

Bedingungen für die Gewinnung von Schnittbändern sind eine gewisse Beschaffenheit der Einbettungsmasse, die Form des Paraffinstücks, welches das zu schneidende Objekt enthält, und einige, besondere Handgriffe, wie rasches Schneiden der Paraffinobjekte. Siehe S. 47.

Reines Paraffin (Schmelzpunkt bei 50° C.) wird in einer Porzellanschale offen über der Spiritusflamme geschmolzen und dann erhitzt, bis weisse Dämpfe aufsteigen (1—6 Stunden), und die Masse eine honiggelbe Farbe ange-

[1]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, 2. Bd., 1885.

[2]) Der Quittenschleim löst sich wieder und damit auch die Präparate in ammoniakalischen Flüssigkeiten, ammoniakalischem Carmin und Boraxcarmin.

nommen hat. Man lässt diese erkalten. Die entwässerten, dann mit Terpentin durchtränkten Präparate kommen noch in eine Mischung von Terpentin mit obigem Paraffin (1 : 3) und dann erst in das Paraffin bei 60—65° C. 1/4—6 Stunden. Man lässt nun die Masse mit dem Objekt erkalten.

Das zu schneidende Paraffinstück wird nun so gestaltet, dass die Ränder der zu machenden Schnitte aufeinander passen. Das Paraffinstück wird vermittelst eines heissen Spatels auf einen Kork festgeschmolzen. Die breiten Seiten stehen parallel zur Schneide des Messers, und dieses senkrecht zur Schlittenführung.

Die Schnitte müssen von gleicher Dicke sein, nicht dicker als 0,01 mm. Dickere Schnitte rollen leicht.

Die Schnittbänder werden durch eine Klebemasse auf dem Objektträger befestigt.

Grössere, leicht zerbrechliche Schnitte werden bei dem Weigert'schen Verfahren (Einschluss derselben in 2 Collodiumplatten) leichter der verschiedenen Nachbehandlung[1]) unterworfen als bei dem Aufkleben auf Objektträger. Die Färbung der Schnitte vollzieht sich rascher und gleichmässiger von beiden Seiten als bei der Färbung auf dem Objektträger, und es empfiehlt sich darum, in ähnlicher Weise, wie die Celloidinschnitte, auch die Paraffinschnitte zwischen Collodiumplatten zu behandeln.

Herstellung der Papier-Gummi-Collodiumplatten.

Blätter oder Bogen von glattem, starkem Schreibpapier werden mit Heftstiften auf einer Unterlage (Brett, glatte Pappe) befestigt und mit einem grossen, weichen Pinsel mit einer gleichmässigen Schicht einer klaren, an Luftblasen freien Lösung von Gummi arab. überzogen (Mucilago Gummi arabic. der Pharmakopoe mit 1/5 Volum. Glycerin, damit die Gummischicht nicht springt). Ist die Gummischicht vollkommen getrocknet, überzieht man dieselbe mit Collodium (käufliches Collodium mit Aether bis zur Consistenz von Glycerin verdünnt mit 0,01 Volumtheil Ricinusöl). Diese Mischung wird rasch mit einem grossen, weichen Pinsel gleichmässig aufgetragen. Ist der erste Anstrich trocken, so kann in einigen Minuten ein zweiter folgen.

Diese Papier-Gummi-Collodiumplatten werden in der Mitte gefaltet, so dass die freie Papierseite nach aussen liegt und in einer Mappe aufbewahrt.

Aufkleben der Schnitte.

Das auf Unterlage fixirte Collodiumpapier wird nun entsprechend einer Schnittreihe mit einer Klebemasse bestrichen von:

---

[1]) Strasser. Nachbehandlung von Serienschnitten bei Paraffineinbettung. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. VII, 1886.

Collodium . . .	2 Vol.
Aether	2 „
Ricinusöl . . .	3 „

Die Schnitte werden glatt aufgelegt und müssen von der Klebemasse durchfeuchtet werden. Dann breitet man vermittelst eines grösseren, weichen Pinsels noch eine reichliche Menge Klebemasse über Alles aus.

Die Entfernung des Paraffins und die weitere Behandlung geschieht durch längeres Verweilen desselben in Benzin oder Terpentin oder Chloroform $^1/_2$ bis mehrere Stunden. Terpentin ist dem Benzin vorzuziehen, weil in ihm die Klebemasse weniger erhärtet, die Luft besser entweicht, und das Paraffin besonders beim Erwärmen sich rascher löst.

Aus dem Benzin oder Terpentin kommen die Platten, nachdem man Benzin oder Terpentin vorsichtig hat abdunsten lassen, ohne dass die Platten trocken werden, in Chloroform.

Nach 15 Minuten oder später Uebertragung derselben in Alkohol von 80—85 Procent, worin sich das Collodium consolidirt.

Ablösung der Collodiumschicht mit den Schnitten.

In Wasser oder $^1/_{10}$ pCt. Alkohol löst sich die Gummischicht in 10—15 Minuten auf, dass die Collodiumplatte mit den Schnitten in toto abgehoben werden kann. Sie kann nun mit Farblösungen behandelt werden.

Aufhellen und Einschliessen.

Die abgetrockneten Blätter kommen in 95procentigen Alkohol und einen Augenblick in noch stärkeren, dann in Kreosot; Einschluss in Canadabalsam. Den Rest der Schnitte kann man in verdünntem Alkohol oder Benzin aufbewahren.

5. Das Injectionsverfahren

findet bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen viel weniger häufig Anwendung als in der Normal-Histologie.[1])

Das Studium der natürlichen Injection der Gefässe mit Blut, sowie der Lymphgefässe mit Lymphe etc. ist für uns von höchster Bedeutung, nur selten bedürfen wir eine künstliche Füllung der Lumina. Wir geben daher nur einen kurzen Abriss der ziemlich complicirten Injectionstechnik, indem wir den Interessenten auf die bekannten Lehrbücher von Ranvier und von Frey verweisen.

[1]) Wer zum Zweck der Injection Säugethiere zu tödten beabsichtigt, narcotisire dieselben sehr vollständig und lasse sie in der Narcose verbluten. Durch die erschlafften Gefässe dringt die Injectionsmasse leichter ein, und die Injection wird vollständiger.

a) Injectionsmasse.

Als solche benutzen wir eine durchsichtige, intensiv gefärbte Flüssigkeit (kaltflüssige Masse) eventuell eine solche, die innerhalb der Gefässe fest wird, also meist eine Leimmasse; bei Anwendung der letzteren muss die Injectionsmasse und das zu injicirende Organ auf höhere Temperatur, 40—50° C., gebracht werden (warmflüssige Masse).

Man gebraucht hierzu grössere, event. mit Wasser gefüllte Blechwannen, die von unten her erwärmt werden.

Die Leiminjectionen sind daher etwas umständlicher, aber wegen der Stabilität der Masse vorzüglicher als die wässerigen Lösungen.

Injection mit blauer Masse.

Kaltflüssige Masse aus Berlinerblau. Hierzu dient lösliches Berlinerblau, das vom Droguisten bezogen werden kann. Zuweilen löst sich dasselbe erst nach Zusatz von etwas Oxalsäure; eine derartige Lösung in 10—20 Theilen Wasser kann direkt zur Injection benützt werden, event. mag man noch je 5 Theile Alkohol und eben so viel Glycerin zufügen.

Warmflüssige Masse aus Berlinerblau (Leimmasse). Man giesst die erwärmte, wässrige Lösung des Berlinerblau allmälig und unter fortwährendem Umrühren in dieselbe Quantität einer ebenfalls erwärmten, concentrirten Leimlösung; die letztere wird so hergestellt, dass gut abgewaschene, feine Gelatinetafeln in etwa der doppelten Menge destillirten Wassers bei Zimmertemperatur etwa 1—2 Stunden lang anquellen; die gequollene Leimmasse wird dann durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade flüssig gemacht.

Da das „lösliche Berlinerblau“[1]) der Droguisten nicht immer zuverlässig ist, so wollen wir die genaue Vorschrift von Thiersch[2]) zur Selbstbereitung der Substanz hier wiedergeben:

Man bereite sich eine kalt gesättigte Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul (A), eine gleiche von Kaliumeisencyanid, d. h. rothem Blutlaugensalz (B) und drittens eine gesättigte Solution der Oxalsäure (C). Endlich ist eine warme, concentrirtere Lösung (2 : 1) feineren Leims erforderlich. Man vermischt nun in einer Porzellanschale etwa 10 Grm. der Leimlösung mit 4 ccm. der Solution A. In einer zweiten, grösseren Schale findet die Vereinigung von 20 Grm. Leimlösung mit 8 ccm. der Lösung B statt, wozu nachträglich noch 8 ccm. der Oxalsäuresolution C kommen.

---

[1]) In Wirklichkeit handelt es sich nicht um eine eigentliche Lösung der Farbe, diese ist nur niedergeschlagen, aber in so feiner Vertheilung, dass der Eindruck einer Lösung entsteht.

[2]) Nach Frey, das Mikroskop, 1886.

Ist die Masse in beiden Schalen auf ca. 25—32° abgekühlt, so fügt man tropfenweise und unter beständigem Rühren den Inhalt der ersten Schale dem Gemisch der letzteren zu. Nach vollständiger Fällung erhitzt man unter Umrühren eine Zeit lang die gebildete, tiefblaue Masse auf 70—100° C. und filtrirt schliesslich durch Flanell.

Die mit Berlinerblau angefertigten Injectionen verlieren im Laufe der Jahre allmälig die blaue Farbe durch Reduction; durch einen Ozonträger, z. B. Terpentinöl, wird sie wieder hervorgerufen.

Carmininjection.

Diese Injectionen sind dagegen vollkommen dauerhaft; hier liegt aber die Schwierigkeit vor, dass die rothe Farbe bei Anwendung von ammoniakalischer Carminlösung sofort transsudirt: die Lösung muss daher neutralisirt werden und zwar mit grosser Vorsicht, da die Masse sonst opak und durch die groben Carminniederschläge vollkommen unbrauchbar wird.

Kaltflüssige Carmininjection. 1 Grm. Carmin wird mit 1 Grm. Ammoniak und ein wenig Wasser gelöst, dazu kommen 20 ccm. Glycerin. Zu dieser Lösung wird eine Mischung, die aus 20 ccm. Glycerin und 18—20 Tropfen Salzsäure besteht, vorsichtig unter starkem Schütteln zugesetzt; das Ganze dann mit 40 Grm. Wasser verdünnt (Kollmann).

Warmflüssige Carmininjection, Carminleim (Frey). Man halte sich eine Ammoniaklösung und eine solche der Essigsäure, von welchen man die zur Neutralisation erforderlichen Tropfenzahlen in leichter Weise vorher bestimmt hat. Etwa 2—2,5 Grm. feinstes Carmin werden mit einer abgezählten Tropfenmenge der Ammoniaklösung, welche man nach Belieben grösser oder kleiner nehmen kann, und etwa 15 ccm. destillirtes Wasser in einer Schale unter Reiben gelöst und filtrirt, wozu einige Stunden erforderlich sind, und wobei durch Verflüchtigung ein Ammoniakverlust erfolgt. In eine filtrirte, mässig erwärmte, concentrirtere Lösung feinen Leims wird die ammonikalische Carminsolution unter Umrühren eingetragen, etwas auf dem Wasserbade erwärmt, und darauf die zur Neutralisation der ursprünglich benutzten Ammoniaklösung erforderliche Tropfenzahl der Essigsäure langsam und unter Umrühren hinzugegeben. Man erhält so die Ausfällung des Carmins in saurer Leimlösung.

Bei Injection von Organen, die stärker alkalisch reagiren, kann der Masse noch eine kleine Menge Essigsäure zugesetzt werden. Die Erwärmung während der Injection darf nicht über 45° C. steigen.[1])

Der Carminleim nach Hoyer wird hergestellt, indem man eine neutrale Carminlösung (s. Färbetechnik) zu einer concentrirten Leimlösung fügt,

---

[1]) Verschiedene Leiminjectionsmassen sind von Dr. Georg Grübler, chem. Laboratorium, Leipzig, Dufourstrasse 17, zu beziehen.

bis diese hellroth erscheint. Darauf giebt man 5—10 Vol.-Proc. Glycerin und 2 Gewichtstheile Proc. conc. Chlorallösung zu.

Neuerdings werden ausserdem, namentlich zur Injection der feinsten Lymphbahnen, noch andere Injectionsmassen verwendet, so z. B. ölige Flüssigkeiten, die man auch mit Alkanna färben kann, gewöhnlich Terpentinöl; andererseits auch Chloroform, in welchem ein dunkler Harzkörper, etwa Asphalt, gelöst ist.

Durch nachherige Behandlung der mit Oel injicirten Theile (in dünnen Schnitten) mit Osmiumsäure 1 pCt. (24 Stunden) oder Goldchlorid 1 pCt. (ebenso lange) erhält man eine schwarze resp. blaue Färbung des Oels.

b) Injectionsapparat.

Man benutzt oft eine Injectionsspritze, die gut schliessen muss und nach dem Gebrauch sehr sorgfältig gereinigt wird; die Spritze wird entweder direkt oder durch einen Kautschukschlauch mit der Canüle verbunden. Die Spritze und die Canülen sind von Metall oder von Glas; die letzteren kann man sich selbst sehr leicht in jeder gewünschten Form herstellen. Der Stempel der Spritze muss nicht gar zu stramm sitzen und ohne jeden Ruck ganz gleichmässig vorgeschoben werden.

Etwas complicirter, indessen sehr empfehlenswerth ist es, die Injection unter constantem Druck vorzunehmen. Wenn man zu diesem Zwecke nicht die grosse Hering'sche Maschine zur Verfügung hat, so kann man sich leicht mittelst einiger Spritzflaschen und Kautschukschläuche den nöthigen Apparat zusammenstellen. Die Flaschen sind durch einen doppelt durchbohrten Kautschukpfropf verschlossen, der in der üblichen Weise mit zwei Glasröhren armirt ist, von denen die eine kurze dicht unter dem Pfropf endet, die andere lange bis auf den Boden der Flasche herabreicht. Die eine der Flaschen A wird mit der Injectionsflüssigkeit grösstentheils erfüllt; das in die Flüssigkeit eintauchende, lange Glasrohr steht an seinem anderen Ende mit der Injectionscanüle in Verbindung. Das andere, kurze Glasrohr wird mit der zweiten Flasche B verbunden, welche als Windkessel dient und zu Anfang nur Luft enthält. Diese zweite Flasche ist dann wiederum durch einen langen Kautschukschlauch, und das bis nahe an den Boden herabreichende Glasrohr mit einem Druckgefäss C verbunden, welches beliebig erhöht werden kann (durch untergelegte Klötze etc.) und mit Quecksilber erfüllt ist. Lässt man nun das Quecksilber aus dem Druckgefäss C in die den Windkessel darstellende Flasche B einfliessen, so wird der Luftraum in B unter den der Niveaudifferenz des Quecksilbers entsprechenden Druck gesetzt; dieser Druck wird sofort auf die in der Flasche A enthaltene Injectionsflüssigkeit übertragen, und unter diesem Druck wird die letztere in das betr. Lumen hineingetrieben. Sorgt man nun dafür, dass die Niveaudifferenz des Queck-

silbers dieselbe bleibt, indem man die Druckflasche C nach Massgabe der allmälig ausströmenden Flüssigkeit erhöht, so bleibt der Injectionsdruck constant. Hat man eine Wasserleitung mit Trommelgebläse zur Disposition, so kann man die Druckflasche hierdurch ersetzen.

Das Druckgefäss kann anstatt mit Quecksilber auch mit Wasser gefüllt werden; zur Erzielung eines grösseren Druckes muss die Flasche viel höher, etwa auf einen Schrank etc. gestellt werden. Selbstverständlich müssen die sämmtlichen Verbindungen luftdicht und korrekt schliessen.

Die in das Gefäss eingebundene Canüle wird mit der Injectionsmasse oder auch, zur Vermeidung von Verunreinigungen, mit destillirtem Wasser erfüllt und, ohne dass eine Luftblase dazwischen tritt, mit der Spritze resp. dem Injectionsapparat verbunden; dann kann die Injection beginnen. Auch weiterhin darf der Strom der Injectionsflüssigkeit nirgends durch Luftblasen unterbrochen werden; bei sorgfältiger Ausführung der Vorbereitungen sind die Luftblasen sicher zu vermeiden.

Ist die Injection dann im Gange, so kommt es leicht zum Austritt der Injectionsmasse aus Seitenästen oder Collateralen; besonders wenn es sich um Organe oder Organtheile handelt, die bei der Section gewonnen worden sind, ohne dass vorher die Injection in Aussicht genommen war; die Lumina müssen dann unterbunden oder zugeklemmt werden. Die Venenlumina bleiben am besten zu Anfang offen, damit sich eventuell das Blut entleeren kann; vor der Beendigung der Injection kann man dieselben dann ebenfalls unterbinden. Bei passender Auswahl der Arterienäste wird man auch an einer bereits durchschnittenen Niere, Lunge, Leber etc. meist noch erfolgreiche Injectionen, allerdings nur auf Abschnitte des Organs beschränkt, ausführen können, indem man einen biegsamen Katheter so weit als möglich in ein Gefäss einführt, und die Canüle mit ihm verbindet.

Man beendet die Injection, wenn die Färbung des Organs genügend intensiv geworden ist; auch die vermehrte Consistenz giebt einen Fingerzeig dafür ab, dass man aufhöre. Nach der Injection kommen die Präparate sofort in Alkohol.

Mit Extravasaten hat man bei Injection pathologisch veränderter Organe oft genug zu kämpfen; durch Vermeidung eines zu hohen Injectionsdruckes wird man dieselben, wenigstens in vielen Fällen, hintanhalten können.

Für viele Injectionen von Lymphgefässen und Saftcanälen (Cornea) benutzt man feine Stichcanülen (die sogen. Einstich-Injectionen), die vorsichtig an die betreffende Stelle des Organs vorgeschoben werden; bei der Injection entsteht dann nothwendig ein „Extravasat", in der Umgebung desselben aber erhält man oft genug die schönste Füllung der Lymphgefässe und Saftcanälchen, und zwar auf sehr einfache, rasche Weise. Zur Injection dient kaltflüssiges Berlinerblau oder Oel, welches

nachher mit Goldchlorid oder Osmiumsäure behandelt und dadurch blau resp. braun gefärbt wird.

Die Methoden der physiologischen Injection sind in den letzten Jahren besonders durch Cohnheim, Heidenhain, Arnold und Thoma u. A. in ausgezeichneter Weise vervollkommnet und erweitert worden; sie haben für viele pathologische Fragen, besonders für die Nieren, eine grosse Bedeutung erlangt. Sie kommen indessen nur bei experimentellen Untersuchugen in Betracht; wir müssen es uns daher versagen, hier auf dieselben einzugehen.

6. Conservirung der Präparate.

Um frische Präparate, die in Kochsalzlösung (0,75 bis 1 pCt.) liegen, für einige Tage zu conserviren, hat man sie nur in einen feuchten Raum zu bringen; dieser wird sehr leicht in folgender Weise hergestellt: Eine grosse flache Glasschale wird einige Millimeter hoch mit Wasser erfüllt; in der Schale steht auf drei Füssen (etwa auf drei mit Siegellack angekitteten Korkstöpseln) eine etwas kleinere Glasplatte, welche die Präparate trägt; über dieselbe wird dann eine Glasglocke gestülpt, die an ihrer Innenseite mit feuchtem Fliesspapier ausgekleidet wird; hierdurch wird der Raum, in welchem die Präparate aufbewahrt werden, abgeschlossen und genügend feucht erhalten. Anstatt der Glasplatte kann man eine hölzerne oder metallene Etagère benutzen, in welcher die Präparate in mehreren Schichten übereinander liegen, ohne sich zu berühren, oder man kann mehrere, derartige Glasplatten, resp. Glastischchen übereinander bauen, dem Sperrwasser kann ein Antisepticum hinzugefügt werden. Für längere Zeit sind frische Präparate in ihrer vollen Zartheit nicht zu conserviren; sie in Kochsalzlösung einzukitten, führt nicht zum Ziel, da die Elemente meist schon in kurzer Zeit zerfallen; ausserdem verdunstet in den meisten Fällen das Wasser trotz sorgfältiger Verkittung. In Kali aceticum, dessen gesättigte Lösung bekanntlich luftbeständig ist, lassen sich manche Dinge erhalten, indessen geht auch hier viel von der ursprünglichen Zartheit der Conturen verloren.

Schnitte fixirter Präparate lassen sich in $^3/_4$procentiger Kochsalzlösung mit einem Procent Chloralhydrat Tage lang aufbewahren, ohne zu verschimmeln.

Meist handelt es sich um die Conservirung von Schnitten, die von Alkohol-Präparaten herrühren. Liegen die Schnitte in Glycerin, so sind sie schon genügend conservirt, wir haben nur noch das Deckglas zu fixiren, damit der auf dem Deckglas sich ansammelnde Staub oder eine sonstige Verunreinigung abgewischt werden kann. Zu diesem Zwecke wird durch eine kleine, auf das Deckglas gelegte Bleikugel das überflüssige Glycerin hinausgedrängt und durch Fliesspapier aufgesogen; dann

wird der Objektträger rings um das Deckglas herum sehr sorgfältig gesäubert, d. h. jede anhaftende Spur von Glycerin entfernt, am besten mittelst feiner Leinewand oder eines feinen Pinsels, die mit Alkohol befeuchtet sind. Dann wird der Rand des Deckglases mit einem erhärtenden Kitt umzogen und so auf dem Objektträger fixirt; als Kitt benutzt man z B. Canadabalsam in Chloroform oder Asphaltlack, Maskenlack, Bernsteinlack, weissen Lack etc. oder eine dicke Lösung von gutem, rothem Siegellack in Alkohol.

Bequemer ist es, jedoch nur für runde Deckgläschen, wenn man zuerst mit Hülfe eines Pinsels und der Drehscheibe einen Ring der Kittmasse auf den Objektträger zieht. Die Lichtung des Ringes ist etwas kleiner als der Durchmesser des Deckplättchens. Man lässt diesen Ring trocknen,

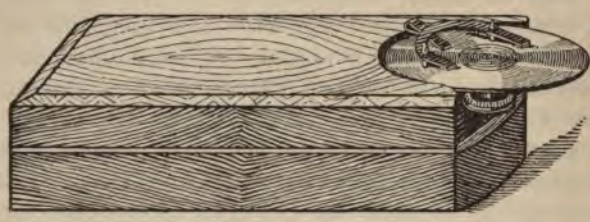


Fig. 38.
Drehscheibe.

bringt in den von ihm umschlossenen Raum — die sog. Zelle, die Conservirungsflüssigkeit und das Präparat, deckt mit Deckgläschen zu und umrandet das letztere mit einem neuen Ring der Kittmasse nach Entfernung der etwa ausgetretenen Conservirungsflüssigkeit. Nach einiger Zeit wird noch ein dritter Ring gezogen.

Statt des Glycerins kann man zum Einschluss der Präparate Glycerinleim, der durch leichtes Erwärmen flüssig wird, anwenden; beim Erkalten wird derselbe starr. Reine Gelatine wird 2 Stunden in kaltem Wasser aufgeweicht. Das Wasser wird abgegossen, die gequollene Gelatine lässt man im Wasserbad schmelzen und fügt die gleiche Menge Glycerin zu. Ist die Masse erstarrt, werden einige Campherstückchen (gegen Verschimmelung) zugefügt. Oder man benützt die Farrant'sche Mischung, welche aus Gummi arabicum, destillirtem Wasser zu 4 Theilen und 2 Theilen Glycerin mit etwas Campher besteht. Für die meisten Fälle genügt einfach die Mucilago gummi arabici; die Präparate werden in die syrupöse Flüssigkeit eingelegt, die Flüssigkeit trocknet am Rande ein und bewirkt ohne Weiteres eine dauernde Conservirung und Fixirung des Präparats.

In der Mehrzahl der Fälle wird man am besten die Präparate in

Harzeinschluss — Damar- oder Canadabalsam — (s. Reagentien) aufbewahren.

Vor dem Einlegen in diese beiden, am meisten gebräuchlichen Einschlussmassen müssen die Schnitte erst entwässert werden. Man bringt sie, nachdem man sie auf dem Spatel glatt ausgebreitet und, so viel als möglich, das anhaftende Wasser durch Anlegen eines Stückchens Fliesspapier entfernt hat, in ein Schälchen mit absolutem Alkohol, deckt dasselbe zu, nimmt sie nach 8—10 Minuten (dünne Schnitte brauchen nicht so lange) mit der Nadel und dem Spatel heraus, wobei man jede Faltung der Schnitte zu vermeiden sucht; saugt den Alkohol mit Fliesspapier auf und giebt die Schnitte in ein Schälchen mit Bergamottöl, Lavendelöl, Ol. Origani cretic., Cedernholzöl oder Xylol.

Ist der Schnitt in dem Oel vollkommen durchsichtig geworden — man überzeugt sich davon, wenn er auf einer schwarzen Unterlage keine grauen oder weisslichen Flecke erkennen lässt — nimmt man ihn mit dem Spatel heraus, lässt das überflüssige Oel abtropfen und bringt ihn auf einen gereinigten Objektträger. Hier wird er glatt ausgebreitet, der Rest des Oels mit Fliesspapier abgesaugt, der Schnitt dann mit einem Tropfen des Balsams bedeckt. Zur Entfernung etwa mit eingeschlossener Luftblasen und zur Compression des Präparates wird auf das Deckgläschen eine kleine Flintenkugel gesetzt. Kleine Luftblasen verschwinden mit der Zeit.

In Folge Verdunstung nimmt der Balsam später ab, und es dringt Luft ein. Dann ist es nöthig, neuen Balsam beizufügen. Einer weiteren Umschliessung des Deckglases mit der Einschlussmasse und einem Deckglaskitt bedarf es nicht. Dickflüssiges Cedernöl wird mit der Zeit fest und kann darum an Stelle des Balsams als Einschlussmasse gebraucht werden.

Der Gang der Operationen ist demnach folgender:

1. Auswaschen,
2. Abtrocknen,
3. Entwässern in Alkohol absol. 10 bis 15 Minuten,
4. Abtrocknen,
5. Einlegen in Oel oder Xylol (bis 5 Minuten),
6. Ausbreiten auf den Objektträger,
7. Auftragen von Balsam, Eindecken.

Will man die Präparate nicht conserviren, so begnügt man sich mit der Untersuchung in Oel.

Um die Präparate aufeinander legen zu können, klebt man an jedem Ende der Objektträger schmale Streifen von Karton oder Pappe mit Wasserglas auf. Für grössere Präparatensammlungen empfehlen sich die Pappkästen, welche in verschiedenen Grössen bei Th. Schröter[1]) zu

[1]) Leipzig, Grosse Windmühlenstrasse 37.

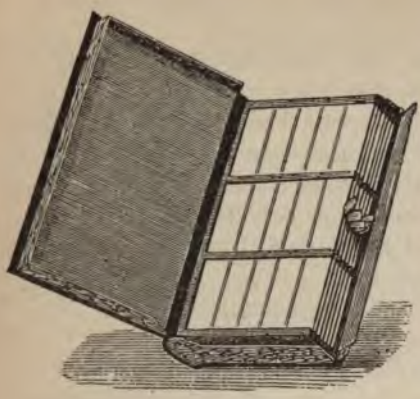


Fig. 39.

Fig. 40.

Präparatenkästen in Tafelformat.

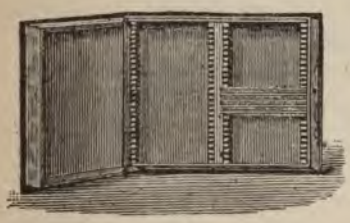


Fig. 41.

Fig. 43.

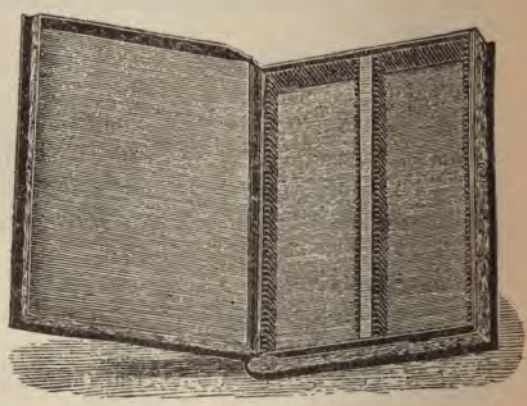


Fig. 42.

Präparatenkästen in Etuisform.

haben sind. Am geeignetsten sind jene, in denen die Objektträger nicht stehen, sondern liegen, schon der Uebersichtlichkeit wegen (Pappkästen in Tafelform).

Man unterlasse nicht die genaue Etikettirung der Präparate. Hierfür werden sowohl einfache Papieretiketten, wie solche von Karton gebraucht. Letztere, welche zugleich als Schutzleisten dienen, gestatten, die Präparate aufeinander zu legen.

IV. Reagentien. Microchemie.

Die Reagentien sind in Glasflaschen mit eingeschliffenen Glasstöpseln (Deckelstopfen) aufzubewahren. Für die fortwährend gebrauchten Reagentien ist sogar ein doppelter Verschluss am Platze; für Glycerin, Essigsäure, destill. Wasser, Oel, Canadabalsamlösung etc. empfehlen sich sogen. Cobaltfläschchen, deren eingeschliffener Glasstöpsel nach unten in einen Glasstab sich verlängert, während über das Ganze ein hutförmiges Glasdach gedeckt wird. Schon der Anfänger soll durch diese saubere Art der Aufbewahrung seiner Reagentien von vorn herein an die penibelste Sorgfalt bei der Arbeit gewöhnt werden.

Wir benutzen stets chemisch reine Präparate; nur bei gewissen Färbemitteln sind wir bis jetzt auf chemisch nicht controllirbare Substanzen angewiesen. Zur Erhaltung der Reinheit ist ausser der erwähnten Art der Aufbewahrung weiterhin noch erforderlich, dass wir nicht unsauber mit ihnen arbeiten; wer mit der Präparirnadel, mit dem Pinsel oder gar mit dem Finger in seine Reagentien hineinfährt, um etwa einen Tropfen herauszuholen, der wird niemals feinere Arbeiten, vor Allem niemals Untersuchungen auf Schizomyceten zu machen im Stande sein. Nur ein sorgfältig gereinigter Glasstab oder eine frisch geglühte Glasröhre darf mit dem Reagens in Berührung gebracht werden.

„Kunstproducte."

Die Anwendung der Reagentien ist von der grössten Wichtigkeit bei histologischen Untersuchungen, viele Structurelemente sind nur mit Hilfe chemischer Einwirkungen zu studiren. Wir müssen selbstverständlich bestrebt sein, die Dinge in möglichst unverändertem, natürlichem, womöglich im lebenden Zustande zu untersuchen; indessen würde man sehr fehl gehen, wenn man alle die Structuren, welche nur durch bestimmte Reagentien sichtbar zu machen sind, als „Kunstproducte" a limine zurückweisen würde. An dem lebenden, weissen Blutkörperchen sieht man gewöhnlich nichts von einem Kern, an der lebenden Cornea nichts von Zellen, weil die Differenzen im optischen Verhalten des Kerns gegen das Protoplasma, der Zelle gegen die Grundsubstanz zu gering sind, um sichtbar zu werden, oder weil die einhüllende Substanz zu undurchsichtig ist, um die zarten Conturen des eingeschlossenen Körpers hindurch zu lassen. Mit dem eintretenden Tode werden dann diese Differenzen durch verschiedene, chemische Veränderungen, Gerinnung etc., deutlicher, resp. die einhüllende Substanz wird durchsichtiger, und wir sind jedenfalls berechtigt anzunehmen, dass der Kern schon im lebenden, weissen Blutkörperchen, die Zellen in der lebenden Cornea vorhanden sind, obgleich wir sie erst nach Eintritt der postmortalen Veränderung nachweisen können; ganz ebenso verhält es sich mit den

Zellengrenzen bei vielen Epithelien, mit den Axencylindern in den Nervenfasern etc., die ebenfalls im lebenden Zustande unsichtbar oder kaum sichtbar, und trotzdem vorhanden sind. Ohnehin bekommen wir bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen die Gewebe fast nie im lebenden, natürlichen Zustande zu Gesicht, sondern immer in mehr oder minder vorgeschrittener, cadaveröser Veränderung; wir müssen demnach stets daran denken, dass eine regelmässig gefundene Structur nicht nothwendig als solche schon intra vitam vorhanden war; jedenfalls aber deutet sie auf eine schon intra vitam vorhanden gewesene Differenz, die dann durch die cadaveröse Veränderung, resp. das von uns angewandte Reagens zum Ausdruck kommt. Weiterhin, wenn innerhalb einer gewissen Zahl von ursprünglich anscheinend gleichartigen Elementen einige auf ein bestimmtes Reagens in besonderer Weise reagiren, andere dagegen nicht, wenn beispielsweise einige durch einen bestimmten Farbstoff gefärbt werden, andere farblos bleiben, so werden wir nothwendig auf eine präformirte Verschiedenheit der Elemente schliessen müssen.

Hierauf beruhen alle die z. Th. sehr complicirten Präparationsmethoden, die wir zur Darstellung der verschiedenen, histologischen Elemente benutzen.

Es geht aus dieser einfachen Betrachtung hervor, wie wir uns zu den, durch unsere Reagentien erzeugten, mikroskopischen Bildern zu verhalten haben; wir dürfen uns durch das Schlagwort: „Kunstproduct" nicht verblüffen lassen; in früheren Zeiten freilich sind viele wichtige, histologische Entdeckungen anfänglich auf diese Weise discreditirt worden. Wir sind bei unsern mikroskopischen Untersuchungen meist nicht einfach als Beobachter thätig, sondern wir experimentiren, und unsere Befunde sind demnach zusammengesetzt aus den präformirten Bildungen einerseits und aus den von uns eingeführten Factoren andrerseits. Wer freilich von seinen Befunden, ohne Berücksichtigung dieser meist sehr einfachen Verhältnisse, direct auf die präformirte Structur schliessen wollte, der würde stets den grössten Irrthümern ausgesetzt sein; z. B. eine scheinbare Faser kann entweder einer wirklichen, präformirten Faser entsprechen, oder aber der Ausdruck einer Faltung sein, oder ein Gerinnungsproduct darstellen etc.

Speciell bei pathologischen Untersuchungen benutzen wir die Reagentien noch nach einer anderen Richtung hin. Wir haben nämlich oft genug die Aufgabe, nach bestimmten Elementen, Fremdkörpern, Parasiten etc. zu suchen; wenn wir nun wissen, dass diese gesuchten Elemente gewissen Reagentien und Behandlungsmethoden widerstehen, während die übrigen Substanzen durch dieselbe Behandlung zerstört werden, so haben wir hierin eine vorzüglich brauchbare Untersuchungsmethode für unsern bestimmten Zweck, wenn auch die Structurverhältnisse des Organs dabei vollständig verloren gehen.

Mikrochemische Untersuchungen.

Mikrochemische Untersuchungen werden entweder so angestellt, dass das Präparat längere Zeit mit dem Reagens in Berührung bleibt, z. B. in ein mit dem Reagens gefülltes Uhrschälchen gelegt wird und dann wieder zur mikroskopischen Untersuchung kommt, oder aber so, dass das Reagens auf das Präparat einwirkt, während wir es mikroskopisch beobachten. Zu diesem Zwecke wird das Reagens an den Rand des Deckglases gebracht und dringt allmälig gegen das Präparat vor; wir können diesen Prozess dadurch beschleunigen, dass wir am gegenüberliegenden Rande des Deckglases die Flüssigkeit mit Fliesspapier absaugen. Auf diese Weise kann man die Einwirkung des Reagens direct unter dem Mikroskop beobachten, z. B. die Auflösung der Protoplasmakörner, der rothen Blutkörper, des Kalks, die Quellung der Grundsubstanz, das Hervortreten der Kerne unter dem Einflusse von Säuren etc. Der Anfänger wird natürlich hierbei recht dringend darauf zu achten haben, dass das Reagens nicht etwa auf die obere Fläche des Deckglases kommt; es könnte dann sehr leicht die Objektivlinse des Mikroskops schädigen. Andere, complicirtere Reactionen, besonders aber die meisten Färbungen werden gewöhnlich in Uhrschälchen vorgenommen.

Die hauptsächlich angewendeten Reagentien sind die folgenden·

I. Destillirtes Wasser.

Das destillirte Wasser enthält meist noch minimale Mengen von gelösten Substanzen und giebt, besonders im Sommer, einen ausreichenden Nährboden ab für verschiedene, kleinste Organismen. Findet man daher in einem, mit destillirtem Wasser behandelten Präparat Mikroorganismen, so beachte man diese Fehlerquelle; durch öfteres Aufkochen kann man sie tödten.

Das destillirte Wasser tritt mit den meisten Bestandtheilen der frischen Gewebe sofort in einen sehr lebhaften Diffusionsprocess; dieselben werden dadurch sehr rasch mehr oder weniger intensiv alterirt; jedenfalls cessiren die vitalen Eigenschaften der in destillirtem Wasser isolirten Elemente des menschlichen Körpers sehr bald. Auch die aus der Leiche entnommenen, abgestorbenen, zelligen Elemente werden wesentlich verändert; am augenfälligsten die rothen Blutkörper; sie quellen an, geben ihren Farbstoff ab und werden bald vollständig unsichtbar.

Hieraus ergeben sich die Art und die Grenzen der Anwendung des destillirten Wassers bei Untersuchung frischer Gewebe sofort; wir verwenden es mit Vorliebe da, wo es uns darauf ankommt, aus sehr blutreichen Substanzen die Blutkörperchen rasch für unsere Betrachtung zu eliminiren, die uns häufig durch ihre grosse Menge die übrigen Elemente

in störender Weise verdecken. Wir werden dabei indessen nie vergessen, dass auch das Gewebe selbst durch das destillirte Wasser event. wesentlich verändert werden kann.

Haben wir es mit Alkoholpräparaten zu thun, so bewirkt das destillirte Wasser lediglich eine Aufquellung und zwar meist in gleichförmiger Art, sodass ungefähr die ursprünglichen Grössenverhältnisse wieder hergestellt werden. Weitere Veränderungen werden durch das destillirte Wasser hier nur selten bewirkt, da die Hauptbestandtheile der Gewebe, die Eiweisskörper, coagulirt, d. h. in eine in destillirtem Wasser unlösliche Modifikation übergeführt worden sind. Jedenfalls muss man aber im Auge behalten, dass die in Wasser löslichen Substanzen, z. B. das Glycogen, der Zucker, den Schnitten rasch entzogen werden.

2. Kochsalzlösung von 0,75%. Indifferente Zusatzflüssigkeit.

Die verschiedensten Mikroorganismen entwickeln sich hier sehr bald in grosser Menge; die Flüssigkeiten müssen demnach sehr oft neu bereitet werden. Antimycotische Substanzen zuzusetzen, muss dringend widerrathen werden, da wir es dann nicht mehr mit reiner Kochsalzlösung zu thun haben; dagegen kann man die Lösung durch Kochen leicht sterilisiren.

Um das Protoplasma und die rothen Blutkörperchen möglichst intact zu erhalten, benutzt man eine Kochsalzlösung von 0,75 pCt., die gewöhnliche Zusatzflüssigkeit bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen, sowohl für frische Gewebsschnitte, als auch zur Verdünnung von Flüssigkeiten. Hat man ein besonderes Interesse daran, die Lebenseigenschaften der Zellen längere Zeit zu erhalten, so füge man zu 9 Theilen der Kochsalzlösung 1 Theil Hühnereiweiss (sogen. künstliches Serum), oder man benutze Humor aqueus, Hydrocelenflüssigkeit, Transsudate, Blutserum etc. zur Untersuchung lebender Gewebe.

3. Alkohol (Härtung).

Wir benutzen stets möglichst reinen Alkohol, niemals den gewöhnlichen Spiritus, der ausser dem Wassergehalt stets noch mit andern Substanzen verunreinigt ist, oft sogar sauer reagirt. Falls wir verdünnten Alkohol anwenden wollen, so mischen wir den absoluten Alkohol mit der nöthigen Menge destillirten Wassers.

Die Hauptanwendung findet aber der Alkohol zur Erhärtung der Gewebe, um denselben eine geeignete Schnittconsistenz zu geben. Die Erhärtung in Alkohol geschieht wesentlich durch zwei Momente, nämlich durch die Entziehung des Wassers und durch die Gerinnung der Albuminate: sonst nimmt der Alkohol noch einige, für die morphologische Betrachtung unwichtige Extractivstoffe und Fett (in geringer Quantität) aus den Organ-

stücken. Es geht hieraus sofort hervor, dass wir über den Fettgehalt der Gewebe, z. B. bei pathologischen Verfettungen, immer nur bei Untersuchung frischer Organe richtigen Aufschluss erlangen können, niemals an Alkoholpräparaten. Naturgemäss kommt durch Wasserentziehung eine Verkleinerung, Schrumpfung der Präparate zu Stande; sind die verschiedenen Theile des Präparats von ungleichem Wassergehalt, so wird auch die Schrumpfung ungleichmässig ausfallen, und das Präparat wird in sehr unerwünschter Weise deformirt. Meist indessen bleibt die Form sehr gut erhalten und entsprechend der im Alkohol eingetretenen Verkleinerung des Präparats, quellen die Schnitte, wenn sie in destill. Wasser gelegt werden (durch Aufnahme von Wasser), wieder auf, sodass sie dann dem ursprünglichen Verhalten wieder sehr ähnlich werden. Den Hauptunterschied bildet die durch die körnig geronnenen Albuminate bedingte Undurchsichtigkeit der Schnitte, welche auch nach dem Aufquellen in Wasser zurückbleibt; gegen diesen Uebelstand verwenden wir dann meist das Glycerin (s. d.) als optisches Aufhellungsmittel oder auch Säuren und Alkalien, durch welche die gefällten Albuminate wieder gelöst, allerdings auch viele Structuren zerstört werden.

Die Härtung in Alkohol geschieht am besten so, dass kleine Organstücke in grosse Mengen des absoluten Alkohols eingebracht werden; man sehe darauf, dass das Organstück von allen Seiten her mit dem Alkohol umgeben ist. So kann man ein etwa 2—3 Cubikcentimeter grosses Organstück binnen 24 Stunden vollständig durchhärten, kleinere Partien noch viel schneller. Die früher oft geübte Methode, die Organe zuerst in schwachen, dann allmälig in immer stärkeren Alkohol einzulegen, ist für mikroskopische Zwecke zu verwerfen.

Für mikroskopische Zwecke genügt meist der käufliche Alkohol von 96 pCt. Um denselben vollkommen wasserfrei zu machen, giebt man in denselben einige Stücke weissgeglühten Kupfervitriols (15 grm. auf 100 ccm. Alkohol). Ist derselbe blau geworden, wird er aufs Neue gebrannt oder durch frisch gebrannten ersetzt. Man erhält 90 procentigen Alkohol (100 ccm.), indem man 94 ccm. 96 procentigen Alkohol mit 6 ccm. destillirten Wassers verdünnt. Alkohol von 60 pCt. wird erhalten, indem man 100 Volumina 90 procentigen Alkohols mit 53,7 Volumina destill. Wassers verdünnt, und 70 procentiger Alkohol wird gewonnen durch Verdünnung des 90 procentigen Alkohols mit 31,0 Volumina Wasser.

Die für die mikroskopische Untersuchung bestimmten Objekte kommen in den absoluten Alkohol, wo sie entweder nach wiederholter Erneuerung desselben bleiben, oder sie werden aus der Fixirungsflüssigkeit erst in 60—70 procentigen Alkohol und nach nochmaligem Wechsel desselben in 90 procentigen übergeführt.

Ranvier's Drittelalkohol, 30 ccm. 90 pCt. Alkohol, 60 ccm. destill. Wasser, dient zum Isoliren der Theile. Siehe Maceration, S. 39.

Während die Zellen darin resistenzfähig werden, bleiben die Kittsubstanzen weich, so dass die Isolirung der Zellen leicht gelingt. Die frischen Gewebsstücke kommen zu diesem Zweck in Alkohol von 30—33 pCt.

Der Alkohol ist für die meisten Gewebe[1]) das geeignetste Härtungsmittel; wir benutzen ihn fast ausschliesslich zu diesem Zweck. Besonders bei pathologisch-anatomischen Gegenständen liegt uns sehr daran, dass die durch die Präparations-Methode bedingten Veränderungen der Substanz einfache und leicht controllirbare seien; das trifft für den Alkohol zu, während die früher so gern angewendete Härtung in Chromsalzen je nach Zeit, Temperatur etc. verschiedene, sehr schwer zu controllirende Veränderungen, Trübungen, Verfärbungen etc. bewirkt. Einige, kleine Kunstgriffe, die zuweilen nöthig werden, ergeben sich fast von selbst; z. B. pflegt der Bulbus in Alkohol sehr schnell zu schrumpfen; diesem Umstande kann man leicht dadurch abhelfen, dass man in den ersten Stunden mit einer Pravaz'schen Spritze Alkohol in den Glaskörper einspritzt, bis die pralle Rundung wiederhergestellt ist; event. muss diese Procedur wiederholt werden.

Manche Gewebe, namentlich die Lunge, Muskulatur etc., erhalten selbst nach langem Aufenthalt im Alkohol keine geeignete Schnittconsistenz[2]); für diese Fälle ist es dann gerathen, das mangelhaft gehärtete Präparat für 24 Stunden in verdünntem Gummischleim einzulegen (mucilago gummi arab., und Glycerin, zu gleichen Theilen) oder der Celloidin-Behandlung zu unterwerfen. Wird dann das mit Gummischleim durchtränkte Präparat wieder in Alkohol gebracht, so erhärtet es sehr gleichmässig und intensiv, da durch den Alkohol das Gummi ausgefällt wird. In Wasser wird dann das Gummi sehr bald aus den Schnitten wieder ausgezogen.

Nur für das centrale Nervensystem ist der Alkohol nicht sehr geeignet, am wenigsten für die weisse Substanz. Hier tritt durch den Alkohol keine genügende Härtung ein, entsprechend dem geringeren Wassergehalt; ausserdem zieht der Alkohol einen grossen Theil der fettigen Substanzen des Nervenmarks heraus, die dann wieder krystallinisch niederfallen; hierdurch wird das Gewebe sehr geschädigt. Für diese wichtigen Organe können wir bis jetzt die Chromsalze nicht entbehren.

4. Aether. Chloroform. (Entfettung.)

Beide Substanzen werden oft gebraucht, um die Fette zu entfernen. Natürlich wirken sie auf frische Organtheile nicht ein, da dieselben mit

[1]) Wie schon erwähnt, ist die Alkoholhärtung für Untersuchungen auf Verfettung nicht geeignet.

[2]) Dasselbe gilt zuweilen für ältere Spirituspräparate, welche nachträglich gehärtet werden sollen.

Wasser durchtränkt sind, und Chloroform wie Aether sich mit Wasser nicht mischen. Die Organstücke (Schnitte z. B.) müssen zuerst durch längere Behandlung mit Alkohol entwässert werden. Der Schnitt, der entfettet werden soll, kommt also zunächst für etwa 5 Minuten in ein Uhrschälchen, das mit absolutem Alkohol gefüllt ist, dann in ein Uhrschälchen mit Aether und Chloroform; tritt hierbei eine Trübung der Flüssigkeit ein, so ist das ein Zeichen, dass der Schnitt noch nicht genügend entwässert ist, also von neuem in absoluten Alkohol kommen muss. Ist er dann einige Minuten lang in Aether resp. Chloroform [1]) geblieben, so dass die darin löslichen Substanzen vollständig ausgesogen sind, so kommt der Schnitt wieder erst eine Zeit lang in Alkohol, dann in ein Uhrschälchen mit Wasser. Wir untersuchen den Schnitt entweder in Wasser, gewöhnlich aber muss wegen der starken, durch die Coagulation der Albuminate bedingten Trübung Essigsäure (zur Wiederauflösung der Albuminate) zugesetzt werden. Der Gang, den wir zur Entfettung frischer Schnitte zu nehmen haben, ist also folgender:

Kochsalzlösung oder Wasser,
Alkohol,
Chloroform oder Aether,
Alkohol,
Wasser, dazu dann Essigsäure.

5. Säuren.

a. Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure. (Entkalkung.)

Die starken Mineralsäuren haben in höheren Concentrationsgraden die Eigenschaft, die Eiweisskörper rasch zu coaguliren: sie können in Folge dessen zur Fixation gewisser, sehr zarter Structuren mit Vortheil benutzt werden (siehe Fixirung S. 30).

In ganz verdünntem Zustande (etwa 1 : 1000) bewirken die Mineralsäuren wesentlich eine Aufquellung der meisten, protoplasmatischen Substanzen, der contractilen und der leimgebenden Substanz etc., ähnlich der Essigsäure.

Sonst benutzen wir dieselben zum Entkalken (siehe Entkalkung S. 37).

---

[1]) In Chloroform werden die Schnitte sofort sehr durchsichtig; es rührt dies nicht etwa von der Lösung der Fette her, sondern ist ein einfach physikalisches Phänomen und wird bedingt durch den hohen Brechungsindex des Chloroform. In Alkohol zurückgebracht, zeigt der Schnitt sofort wieder seine frühere Undurchsichtigkeit.

b. Essigsäure.

Die Anwendung der organischen Säuren, besonders der Essigsäure ist eine sehr gewöhnliche bei unseren Arbeiten; wir benutzen sie hauptsächlich zur Lösung resp. Aufquellung der Albuminate und der leimgebenden Substanz, aus welcher bekanntlich die Bindegewebs-Fibrillen bestehen. Da die Substanz der Kerne und das elastische Gewebe, die Fette, das Nervenmark etc. der Essigsäure widersteht, so ist diese ein sehr bequemes Mittel, um den innerhalb einer dunkelkörnigen Zelle verborgenen Kern und das im Bindegewebe, in der Muskelsubstanz etc. zerstreute, elastische Gewebe deutlich zu machen. Auch die im Protoplasma, in der contractilen Substanz der Muskel etc. eingelagerten Fettkörnchen treten nach Essigsäurewirkung sehr viel deutlicher hervor; ebenso verhalten sich die in den Geweben vorhandenen Microorganismen. Schon in einer Verdünnung von 1 : 100 wirkt die Essigsäure in der beschriebenen Weise; selbst bei 1 : 1000 tritt die aufhellende Wirkung noch deutlich zu Tage, nur etwas langsamer.

Wenn wir einen Schnitt vom frischen Organ oder vom Alkoholpräparat in ein Uhrschälchen mit Essigsäure bringen, so wird er gewöhnlich ganz durchsichtig und quillt dabei stark; meist geschieht dies in ungleichmässiger Weise, so dass der Schnitt eine grob-wellige Beschaffenheit annimmt; so wird er für die Untersuchung nahezu unbrauchbar. Wir thun daher besser, wenn wir die Essigsäure unter dem Deckglase auf die Schnitte einwirken lassen; ein kurzes Heben, Lüften des Deckglases reicht aus, um den an die Seite desselben gebrachten Tropfen Essigsäure eindringen zu lassen; der leichte Druck des Deckglases genügt, um die Flächengestalt des Schnittes zu erhalten. Soll die Essigsäurewirkung prompt und energisch eintreten, so benutzen wir die unverdünnte Säure, den Eisessig; für die meisten Zwecke ist es indessen gerathen, denselben mit ein wenig destillirtem Wasser zu verdünnen.

In vielen Substanzen, welche mit alkalischen Eiweisslösungen durchtränkt sind, tritt durch die Essigsäure zuerst eine Trübung auf, bedingt durch die Neutralisation des Alkali; setzt man dann mehr Essigsäure zu, so hellt sich diese Trübung wieder auf. Indessen kann auch eine dauernde Trübung durch Essigsäure entstehen, die sich im Ueberschuss der Säure nicht löst; das Mucin wird nämlich durch Essigsäure gefällt. In Exsudaten, Cysteninhalt etc. finden sich oft gleichzeitig Fibrin, Serumeiweiss und Mucin; je nach den quantitativen Verhältnissen der Mischung wird dann die Wirkung der Essigsäure verschieden ausfallen. In den meisten Fällen werden die Substanzen durch die Essigsäure sehr stark aufgehellt, durchsichtig.

Bei der starken Quellung, welche die eiweisshaltigen und leimgebenden Körper durch die Essigsäure erleiden, ist es nicht wunderbar, dass die

nach der Essigsäurewirkung hervortretenden Conturen, also die Grenzen der gegen die Säure resistenten Gebilde, nicht immer ganz unverändert bleiben. Schon in den vierziger Jahren machte Henle darauf aufmerksam, dass die mehrfachen Kerne, welche nach Essigsäurewirkung in den weissen Blutkörperchen, Eiterkörperchen etc. auftreten, nicht praeformirter Bildung seien; diese Körper enthielten vielmehr nur einen Kern, der durch die Wirkung der Säure in mehrere Stücke zersprengt werde. Für viele Fälle trifft dies in der That vollkommen zu; wenn wir auch jetzt wissen, dass ein Theil der lymphoiden Zellen schon im lebenden Zustande mehrere Kerne besitzt, so ist es doch dringend geboten, daran zu denken, dass die in einer Zelle nach Essigsäure-Einwirkung auftretenden Kerne möglicherweise Kunstproducte, Sprengstücke eines ursprünglich einfachen Kernes darstellen können.

In bindegewebigen Substanzen wird durch die Essigsäure oft eine wesentliche Verschiebung der Structur bewirkt; z. B. sind die regelmässigen Längsreihen, in denen die Zellen der Sehnen, Fascien etc. angeordnet sind, nach der Aufquellung durch Säure gewöhnlich nicht zu constatiren, die Kerne liegen dann scheinbar regellos zerstreut. Ranvier benutzte die Vorsicht, eine kleine Sehne in gespanntem Zustande an den Enden durch Wachskügelchen auf dem Objektglase zu fixiren, sie einzudecken und erst dann die Essigsäure langsam einwirken zu lassen; dann tritt die Quellung in weniger unregelmässiger Weise ein und die Längsreihen der Zellen resp. der Kerne werden deutlich. Es ist dem Anfänger dringend anzurathen, sich von diesen und ähnlichen Thatsachen durch eigenes Experimentiren zu überzeugen, damit er in die Lage kommt, zu beurtheilen, welche Veränderung der Strukturen er durch seine verschiedenen Zusatzflüssigkeiten einführt.

Ameisensäure, Weinsäure sind weniger üblich; ihre Wirkung ist der Essigsäure ähnlich.

c. Picrinsäure.

Die Picrinsäure dagegen hat eine besondere Verwendung, nämlich als Härtungsmittel und als Färbesubstanz; die Albuminate werden in der gesättigten Lösung der Picrinsäure allmälig in die unlösliche Modification übergeführt, so dass die Gewebe fast ganz ohne Schrumpfung eine geeignete Schnittconsistenz erhalten. Dabei werden die meisten Substanzen gelb gefärbt, einige besonders intensiv, z. B. die glatten Muskeln, die verhornten Zellen der geschichteten Epithelien und der Epidermis etc. Diese charakteristische Färbung tritt auch an Schnitten, die von Alkohol-Präparaten gemacht worden sind, in kürzester Zeit ein, in wenigen Minuten, sie wird allerdings durch Wasser und Alkohol sehr rasch wieder ausgezogen. Wollen wir die Färbung conserviren, so muss dem Wasser, Alkohol, Glycerin etc. eine kleine Menge Picrinsäure zugesetzt werden.

Zur Fixirung dient gesättigte, wässerige Picrinsäure, worin die Organstücke 24 Stunden verweilen, um darauf in Alkohol gewaschen zu werden.

d. Chromsäure.

Chromsaure Salze, Müller'sche Lösung.

In sehr starker Verdünnung ist die Chromsäure als Macerationsmittel im Gebrauch, etwa 1 : 10,000 und 1 : 30,000; legt man z. B. ein Stückchen Rückenmark für 24 Stunden in eine solche Lösung, so gelingt es dann sehr leicht, die Ganglienzellen mit ihren z. Th. vielfach verästelten Fortsätzen zu isoliren, da die Kittsubstanz erweicht, resp. gelöst ist.

Wichtiger für unsere Zwecke ist die Wirkung der Chromsäure als Erhärtungsmittel; man wendet entweder die Säure in 0,2—1 procentiger Lösung, oder ihre Salze an.

Hauptsächlich in Gebrauch sind:

Kali bichromicum oder Ammonium bichromicum, in etwa 2procentiger Lösung, Müller setzte der Lösung des dopp. chroms. Kali noch schwefels. Natron zu, diese Müller'sche Lösung:

Kali bichromicum	2,0
Natron sulfur. .	1,0
Aq. destill. . .	100,0

ist als Erhärtungsmittel nicht nur für das Nervensystem und den Bulbus, sondern auch für viele Organe vielfach in Gebrauch.

Die volle Erhärtung kommt sehr langsam, erst im Laufe von Wochen und Monaten zu Stande, und zwar um so langsamer, je voluminöser die eingelegten Stücke sind, da das Chromsalz sehr allmälig in das Innere der Präparate eindringt; für eine Gehirnhemisphäre kann man ein halbes oder ein ganzes Jahr rechnen, dann aber erhalten sie eine sehr gute Consistenz. Man muss die Erhärtungsflüssigkeit öfter wechseln; um das Verschimmeln der Lösung zu verhindern, fügt man ein Stückchen Campher zu (Klebs). Nach Weigert geht die Härtung viel schneller vor sich, wenn man die Härtung im Brutofen bei 30 bis 40° C. vornimmt. Erlicki giebt eine Flüssigkeit an, die aus 2½ pCt. Kali bichromicum, und ½ pCt. Cuprum sulfuricum und 100 Theile destill. Wasser besteht; in dieser kommt die Härtung schon in der Zimmertemperatur sehr rasch, in 8—10 Tagen, zu Stande.

Nachher kommen die Präparate in Alkohol, der event. ein wenig verdünnt werden kann. Siehe auch: Fixiren, Müller'sche Flüssigkeit, S. 32.

Das Central-Nervensystem nimmt daher eine sehr gleichmässige, derbe Schnittconsistenz an; dabei zeigt dasselbe bestimmte, charakteristische Farbendifferenzen schon für das blosse Auge. Die graue Substanz setzt sich von der weissen durch die hellere Färbung ab, während die letztere dunkelgrün wird; die gewöhnliche Form der grauen Degeneration oder

Sclerose in den weissen Strängen zeigt einen dunkelbräunlichen Ton, während die meisten, secundären Degenerationen eine hellere Färbung als die normalen Stränge annehmen, und zwar auch in solchen Fällen, welche in frischem Zustande eine Farbendifferenz zwischen normalen und degenerirten Partien durchaus nicht zeigten.

Für andere Organe ist die früher sehr beliebte Härtung in den Lösungen der Chromsäure resp. der Chromsalze nur in vereinzelten Ausnahmefällen zu empfehlen; wir ziehen, abgesehen vom Nervensystem und dem Bulbus, die Härtung durch Alkohol vor. Durch die Chromsalze kommen oft genug fädige oder netzförmige Gerinnungen zu Stande, die dann irrthümlich für praeformirte Bildungen angesehen werden können; weiterhin sind auch die durch ihre Einwirkung entstehenden, dunkelkörnigen Niederschläge in den Zellen und Zwischensubstanzen oft sehr störend und durch chemische Mittel nur sehr schwer aufzuhellen. Kalkeinlagerungen werden durch die Chromsäure und die doppelt-chromsauren Salze allmälig aufgelöst und können so der Beobachtung entzogen werden. Microchemische Reactionen sind an den mit Chromsalzen behandelten Präparaten überhaupt fast gar nicht mehr anzustellen; aus diesen und anderen Gründen empfehlen wir die Chromsalze als Härtungsmittel nur da, wo der Alkohol wegen der besonderen, chemischen Constitution nicht günstig einwirkt, also wesentlich nur beim Nervensystem oder aber bei sehr stark verfetteten Organen; stets wird dabei eine Controlle der Resultate an frisch untersuchten resp. Alkoholpräparaten wünschenswerth bleiben (z. B. wegen etwaiger Verkalkungen, welche durch die Chromsäure und deren saure Salze leicht vollständig gelöst werden können und so der Beobachtung sich entziehen).

Das einfach chromsaure Ammoniak wurde in 5 procentiger Lösung von Heidenhain mit grossem Vortheil für die normalen Nieren verwendet und zwar besonders zur Demonstration der Stäbchenstructur an den Epithelien der Harncanälchen. Das Mittel dürfte auch für pathologisch-anatomische Untersuchungen zu empfehlen sein.

6. Alkalien. Kali- und Natronlauge. Ammoniak.

Die Alkalien bewirken eine Auflösung resp. Aufquellung der Albuminate, der leimgebenden Substanz, der contractilen Substanz der glatten und quergestreiften Muskeln und der Kerne; selbst die Hornsubstanz wird durch dieselben vollkommen durchsichtig.

Es bleiben von Gewebebestandtheilen wesentlich nur:

1. Das elastische Gewebe,
2. Die Fette (auch das Nervenmark),
3. Kalk, Pigment etc.,
4. Die amyloide Substanz, ausserdem auch Chitin (Haken von Tänien, Echinococcen, Cellulose, Pilzfäden, Sporen und Schizomyceten.

Hieraus wird sofort der vielfältige Gebrauch der Alkalien für unsere Zwecke klar; wo es sich darum handelt, die zuletzt aufgeführten Substanzen zu suchen, da treten die Alkalien ein. Allerdings wird die Gewebsstructur dabei nahezu vollständig ruinirt; während wir uns an einem durch Essigsäure ad maximum aufgehellten Schnitt durch die restirenden Kerne stets noch ziemlich gut orientiren können, fällt hier alles derartige weg, nur an dem elastischen Gewebe, den homogenen Membranen, haben wir noch Anhaltspunkte.

Wir benutzen für die meisten Zwecke am besten eine Kali- oder Natronlauge von 1 bis 3 pCt.; schon in dieser Verdünnung tritt die aufhellende Wirkung sofort ein. Eine besondere Wirkung kommt dann der concentrirten 33procentigen Lauge zu; in dieser erhalten sich die meisten Elemente, während die Kittsubstanz gelöst wird. Namentlich für glatte und quergestreifte Muskelfasern trifft dies zu; legt man z. B. ein Stückchen eines Uterusmyoms für einige Minuten in ein Uhrschälchen mit 33 procentiger Kalilauge, so zerfällt dasselbe unter der Nadel fast von selbst in die einzelnen Faserzellen; man hat dabei nur darauf zu achten, dass die Lauge nicht verdünnt wird, denn dann löst sich auch die Faser selbst sofort auf; das Präparat muss also direkt in der 33 procentigen Lauge untersucht werden. Auch rothe Blutkörperchen conserviren ihre Form in der 33procentigen Lauge, während sie in verdünnten Lösungen sofort verschwinden.

Nach einer Beobachtung Virchow's sind schwache Lösungen der Alkalien im Stande, die Bewegungen von Flimmerzellen wieder anzuregen, die bereits bewegungslos, scheinbar abgestorben waren.

7. Glycerin.

Das Glycerin muss vor Allem frei von saurer Reaction sein; ein geringerer Wassergehalt stört weniger. Wir verwenden es meist in reiner Form; mit Wasser verdünntes Glycerin pflegt leicht zu schimmeln.

Das Glycerin ist von grossem Werthe für die histologische Untersuchung von Organen, die in Alkohol und anderen, das Eiweiss coagulirenden Substanzen — Picrinsäure, Chromsäure und deren Salze etc. — gehärtet sind. Hierbei sind dann nothwendig starke Trübungen in den Geweben entstanden; wenden wir Säuren oder Alkalien an, um die durch das Härtungsmittel niedergeschlagenen Eiweisskörnchen zu lösen, so zerstören wir zugleich viele andere Structuren, so die Bindegewebsfasern, das Fibrin, die Blutkörperchen.

Desshalb benutzen wir für diese Fälle als Aufhellungsmittel das Glycerin. Dieses übt einen aufhellenden Einfluss nicht durch chemische Lösung resp. Quellung der Eiweisskörner (nur das Fett wird allmälig im Glycerin gelöst), sondern vielmehr lediglich durch ein physikalisches

Moment, durch sein hohes Lichtbrechungsvermögen. Wir können uns diese Wirkung sofort anschaulich machen, wenn wir die Contur eines Glasstabes, der in Wasser getaucht wird, mit der eines Glasstabes in Glycerin vergleichen; die letztere ist viel zarter. Oder wenn wir ein Stück Filtrirpapier mit Wasser, ein anderes mit Glycerin durchtränken; das letztere wird viel durchsichtiger. Die Conturen eines mit Glycerin getränkten Gewebsstückes werden also sämmtlich viel zarter; daher ist das Glycerin bei der Untersuchung frischer Gewebe, deren Elemente ohnehin schon sehr zarte Conturen haben, für die meisten Fälle unbrauchbar, da die Conturen dann fast ganz unsichtbar werden. Dagegen ist der Grad der durch das Glycerin bewirkten Aufhellung besonders für Alkohol-Präparate gerade passend.

Das Glycerin mischt sich mit Wasser, sowie mit Alkohol, Essigsäure etc. in jedem Verhältniss, allerdings entsprechend seiner syrupösen Consistenz ziemlich langsam; wollen wir also eine chemische Reaction recht schnell eintreten lassen, z. B. die Wirkung von Jod, oder einer Säure constatiren, so ist ein Glycerinpräparat dazu weniger geeignet. Jedenfalls ist das Glycerin aus dem Präparat sehr leicht zu entfernen, indem wir dasselbe in ein Schälchen mit Wasser legen.

Das Glycerin hat ausserdem bekanntlich die Eigenschaft, dass es an der Luft weder verdunstet, noch sonstige, chemische Veränderungen eingeht; höchstens nimmt es unter Umständen aus feuchter Luft etwas Wasser auf. Diese Eigenschaft macht das Glycerin zu einem vorzüglichen Conservirungsmittel für mikroskopische Präparate; will man ein in Wasser oder einer wässerigen Lösung befindliches Präparat conserviren, so braucht man nur einen Tropfen Glycerin an den Rand des Deckgläschens zu bringen; nach Massgabe der Verdunstung des Wassers dringt das Glycerin ein. Auch frische Präparate kann man auf diese Weise conserviren; wenn man später das Glycerin durch Wasser oder Kochsalzlösung verdrängt, so ist der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt.

Die dunkle Conturirung, der Glanz der elastischen Fasern und Platten wird im Glycerin nur wenig verringert, da ihr Lichtbrechungsvermögen noch erheblich höher steht; dagegen geht der eigenthümliche Glanz, den die amyloide Substanz, das von Recklinghausen sogenannte Hyalin und andere colloide Stoffe bei Untersuchung in wässerigen Flüssigkeiten darbieten, im Glycerin zum grossen Theile verloren, weil ihr Brechungsvermögen sich nur sehr wenig von dem des Glycerins unterscheidet. Bei genauer Untersuchung ist der Unterschied in den meisten Fällen zwar noch einigermassen deutlich; immerhin thut man gut, wenn man nach diesen Dingen sucht, die Präparate erst in Wasser zu betrachten. Dass kleine Fetttröpfchen in Glycerin vollständig unsichtbar werden, ist bereits bemerkt worden; man darf natürlich zur Untersuchung auf Verfettung niemals Glycerinpräparate benutzen.

8. Kali aceticum.

Eine gesättigte Lösung von Kali aceticum (von Max Schultze empfohlen) kann ebenfalls als Conservirungsflüssigkeit verwendet werden; auch diese Flüssigkeit ist der Verdunstung nicht ausgesetzt, luftbeständig. Eine aufhellende Wirkung kommt derselben nur in geringem Grade zu, wir werden sie daher besonders zur Conservirung frischer, nicht gehärteter Objekte verwenden. Besonders zur Conservirung von Verfettungen ist diese Methode ziemlich brauchbar; freilich verlieren die Conturen der Fetttropfen mit der Zeit ihre ursprüngliche Schärfe.

9. Oele.

Wünschen wir an den Präparaten eine noch weitergehende Aufhellung (besonders nach vorangegangener intensiver Färbung), so verwenden wir verschiedene Oele: Terpentin, Nelken-, Cedernholz-, Origanum-, Zimmet-, Bergamott-, Anis-, Lavendel-Oel etc., sowie das Xylol und Phenol (Creosot). Alle diese Flüssigkeiten sind mit Wasser gar nicht oder nur sehr wenig mischbar, die aufzuhellenden Schnitte werden demnach zuerst durch Alkohol entwässert; es genügt, sie für einige Minuten in ein Uhrschälchen mit Alkohol zu bringen, dann durchtränken sie sich alsbald mit Oel. Der Schnitt erhält dabei eine maximale Transparenz; das Lichtbrechungsvermögen der genannten Flüssigkeiten ist ein sehr hohes, viel höher, als das des Glycerins, nahezu dasselbe, wie das des Glases. Auch die härtesten Conturen der menschlichen und thierischen Elementartheile gehen bei dieser Behandlung fast vollständig verloren; an ungefärbten Präparaten sehen wir gewöhnlich fast gar nichts mehr; auch die elastischen Fasern sind nur noch mit Mühe zu erkennen, besonders wenn die offene Beleuchtung mittelst des Condensor (Abbe-Koch) hinzugefügt wird; um so deutlicher treten die gefärbten Partien zu Tage. Wir müssen demnach bei einem derartigen Modus der Untersuchung stets im Auge behalten, dass wir den grössten Theil der Structuren absichtlich unserer Untersuchung entzogen haben.

Die genannten Oele sind nicht von gleichem Werth. Terpentin macht die Präparate brüchig und beeinträchtigt mit der Zeit die Hämatoxylinfärbung. Andere entziehen verschiedene Farben. So entfärbt Bergamottöl Eosin, Nelkenöl zerstört ebenfalls manche Farben und löst Celloidin. Das unschädlichste Oel scheint Ol. Origani cretic. zu sein.

10. Creosot, Carbolsäure, Xylol, Anilin.

Diese Körper, besonders concentrirte Carbolsäure, entwässern und hellen auf. Sie finden statt der Oele da Anwendung, wo durch jene Fär-

bungen zerstört werden könnten, oder wo man die Einbettungsmasse der Präparate (Celloidin), welche sich in absolutem Alkohol löst, zu erhalten wünscht. Die Entwässerung vollzieht sich jedoch etwas langsamer als in Alkohol, und die Schnitte schrumpfen leicht. Obige Stoffe mischen sich mit Canadabalsam.

Anilin.

$C^6 H^7 N$ oder Phenylamin ist eine ölige Flüssigkeit (Anilinöl), die an der Luft sich bald bräunt. Sie löst sich wenig in Wasser, mehr in Alkohol. Man bedient sich in der mikroskopischen Färberei des Anilinöls in Wasser gelöst.

Anilin . . . . . 1 ccm.
Sterilisirtes, destill. Wasser 20 „

werden geschüttelt. Nach einer halben Stunde wird durch einen mit sterilisirtem Wasser befeuchteten Filter filtrirt. Die durchlaufende Flüssigkeit ist klar, verändert sich aber rasch.

Fränkel's Mischung, alkoholisirtes Anilinwasser ist haltbarer.

Reines Anilin . . 3 Vol.
Starker Alkohol . 7 „

mischen, dann Zugabe von

Destillirtem Wasser 90 Vol.

Für den jeweiligen Gebrauch bereitet man sich eine frische Lösung.

Zur Aufhellung von Schnittserien aus Celloidinpräparaten mischt Weigert 3 Raumtheile Xylol mit 1 Theil Acid. carbolic. pur. resp. liquefact., und erhält so ein ganz vortreffliches Aufhellungsmittel. Nur muss man die flüssige Carbolsäure möglichst wasserfrei verwenden. Deshalb entwässert man die Mischung mit ausgeglühtem Kupfervitriol. Man erhitzt Kupfervitriolkrystalle in einer Porzellanschale solange, bis sie nach kurzer Zeit zu einem weissen Pulver zerfallen sind. Dann lässt man das Pulver abkühlen und giebt davon in eine hohe, recht trockne 250 Gramm-Flasche (etwa soviel, dass es 2 cm. hoch steht). Man giesst die obige Mischung darauf und schüttelt. Das Pulver setzt sich sehr bald zu Boden und die darüber stehende Flüssigkeit ist klar und lässt sich klar abgiessen.

Diese Mischung giesst man in eine Schale und bringt die aus 80 pCt. Alkohol genommenen Celloidinschnittbänder hinein. Sie werden sehr bald hell und können, wenn sie nicht schon auf dem Objektträger festliegen, auf einen solchen gebracht werden. Man trocknet sie dann mit aufgelegter, mehrfacher Lage von Fliesspapier ab und schliesst sie mit dickflüssigem Balsam ein. Die gebrauchte Mischung kann man ruhig wieder in die Flasche zurückgiessen und dies immer wiederholen.

Die Carbolsäure-Xylolmischung findet nur für Hämatoxylin- und Carminpräparate Anwendung. Mit basischen Anilinfarbstoffen tingirte

Schnitte entfärben sich. Für letztere eignet sich Vorfärbung mit Carmin, Nachfärben mit Anilinwassergentianaviolett, darauf Benutzung der Jodjodkaliumlösung und Aufhellen in Xylol mit Anilinöl vermischt.

II. Die harzigen Einschlussmittel.

Die mit Oel vorbereiteten Präparate können dann in Harzen auf eine längere Dauer conservirt werden. Als solche Einschlussmittel sind besonders jene empfehlenswerth, welche nicht zu rasch eintrocknen, wodurch das Harz auskrystallisirt, und Luftblasen auftreten. Dies ist in hohem Grade bei dem in Alkohol gelösten Kolophonium und Sandarak der Fall.

Der Canadabalsam empfiehlt sich durch sein starkes Brechungsvermögen besonders für solche Präparate, bei denen es auf grössere Durchsichtigkeit (Auslöschen des Structurbildes) ankommt. Es findet darum mehr für gefärbte Präparate, besonders für solche von Microorganismen Anwendung. Man verdünnt den zähflüssigen Balsam mit verschiedenen Oelen (Terpentin, Eucalyptus-, Lavendel-, Cedernöl) oder mit Chloroform, Xylol, Benzin. Am häufigsten wird Balsam in Chloroform oder besser in Xylol gebraucht. Martinotti empfiehlt sehr Canadabalsam in Lavendelöl.[1])

Damarharz[2]) löst sich in Chloroform, Benzin, Xylol, Terpentinöl. Er trocknet sehr langsam und bricht das Licht weniger stark als Canadabalsam. Darum eignet er sich mehr für solche Präparate, in denen man Erhaltung des Structurbildes wünscht.

Nach van Heurck[3]) hat der Styrax in Chloroform vor Canadabalsam den Vorzug, dass er mit dem Alter sich nicht färbt. Liquidambar[4]) in Benzin und Alkohol gelöst soll ihn noch durch höheren Brechungsindex übertreffen.

Reagentien zum Färbungsverfahren.

Grundsätze der Färbetechnik.

Die Technik der Färbung ist für unsere Zwecke unentbehrlich; besonders durchschlagend waren die Erfolge der Färbungen bei der Ent-

---

[1]) Essence d'aspic rectifiée bei Duroriez, Paris.

[2]) Im Damarharz bildet sich nach einiger Zeit eine Trübung. Sie soll vermieden werden, indem man 4 Thle. Damar in 8 Theilen Benzin löst. Es entsteht nach einigen Tagen ein Niederschlag, Man decantirt und fügt etwas Terpentin zu. Martinotti, Zeitschrift f, wissenschaftl. Mikroskopie Bd. 4, 1887, S. 156. empfiehlt Damar in Xylol und Terpentin zu lösen.

[3]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie Bd. 2, 1885.

[4]) Von Rousseau, Paris (Société anonyme de fabrications de produits chimiques etc., 42—44 rue des Ecoles), zu beziehen.

deckung pflanzlicher Parasiten. Weigert, P. Ehrlich und Koch haben sich nach dieser Richtung hin die hauptsächlichsten Verdienste erworben; die sehr dankenswerthen Studien Ehrlich's beziehen sich wesentlich auf die Theorie der Farbestoffwirkungen.

Es handelt sich bei den Färbungen darum, dass bestimmte Bestandtheile der Gewebe und selbst der Zellen einen Farbstoff aus der angewendeten Lösung mit grosser Energie resp. in grosser Quantität an sich ziehen und mit demselben eine intensiv gefärbte Verbindung von grösserer oder geringerer Festigkeit bilden. Die Verwandtschaft der verschiedenen Substanzen des menschlichen Körpers zu den verschiedenen Farbstoffen ist nun natürlich eine höchst mannigfaltige, und wir haben allmälig fast für jeden Gewebsbestandtheil einen besonderen Farbstoff, resp. eine eigene Färbungsmethode kennen gelernt, durch welche derselbe eine specifische, intensive Färbung, im Gegensatz zu den übrigen Gewebsbestandtheilen, annimmt. Somit erhält die Färbung in vielen Fällen den Werth einer chemischen Reaction, durch welche wir eine bestimmte Substanz, welche mitten unter vielen, anderen Massen versteckt liegt, auf leichte und bequeme Weise hervorheben können. Diese „elective" Wirkung der Farbstoffe ist für die pathologische Untersuchung von grosser Bedeutung: Elemente, die nur bei sehr sorgfältiger Untersuchung innerhalb des Gewirres der übrigen Structuren sich durch ihre zarten Conturen zu erkennen geben, treten nach der isolirten Färbung sofort selbst für die flüchtige Betrachtung, oft schon bei schwacher Vergrösserung hervor, so dass die bei dem Färbungsverfahren aufgewendete Zeit sehr bald durch die erreichte Bequemlichkeit und Sicherheit der Untersuchung wieder eingebracht wird.

In vielen Fällen giebt uns das Färbungsverfahren allein Aufschluss über vorhandene Differenzen in solchen Gewebs- und Zellenbestandtheilen, die vorher vollkommen gleichförmig erschienen.

Dass die vollständige Ausnutzung der Resultate der Färbungen erst durch die Anwendung des offenen Condensors resp. des Abbe'schen Beleuchtungsapparates gewonnen wird, ist schon oben erläutert worden.

Die Manipulation des Färbens geschieht in den meisten Fällen so, dass ein Schnitt aus dem destillirten Wasser in das mit der Farblösung erfüllte Schälchen eingetragen wird, so dass er überall von der Farblösung umgeben ist; er bleibt darin verschieden lange Zeit, einige Minuten bis 24 Stunden, wird dann wieder in destillirtes Wasser gebracht, um die äusserlich anhängenden Theile der Farblösung abzuspülen, und dann entweder direkt in Glycerin oder, nach der Entwässerung durch Alkohol oder Xylol, in Oel untersucht, oder, wenn derselbe für länger conservirt werden soll, in Harz eingeschlossen.

Die Wirkung des Färbungsverfahrens ist hier einfach die, dass ge-

wisse Elemente den Farbstoff annehmen, andere Elemente ungefärbt bleiben (Election).

In vielen Fällen wird aber der aus der Farblösung entfernte, abgewaschene Schnitt noch weiteren Proceduren unterworfen: er wird wieder entfärbt, d. h. partiell entfärbt. Hier ist nämlich zunächst eine vollständig diffuse, gleichmässige, also unbrauchbare Färbung eingetreten; aber während gewisse Elemente bei dem nachträglichen Extractionsverfahren den Farbstoff vollständig wieder abgeben, halten ihn andere, mit stärkerer Affinität begabte Elemente fest (Princip der maximalen Entfärbung, Ehrlich). Dieses Verfahren spielt jetzt besonders bei den Färbungen mit Anilinstoffen eine grosse Rolle; als Extractionsmittel dient gewöhnlich Alkohol, event. auch Säuren oder Alkalien.

Die Färbung eines Schnittes unter dem Deckglase vorzunehmen, ist nur in den wenigsten Fällen zu rathen; die Färbung fällt meist zu ungleichmässig aus, beschränkt sich auf die Randpartien etc. In Flüssigkeiten isolirte Elemente, Zellen etc. können zuweilen unter dem Deckglase gefärbt werden; indessen ist auch für diesen Fall die von Koch und Ehrlich geübte Färbung des Trockenpräparats gewöhnlich weitaus vorzuziehen. (Vgl. den Abschnitt: Untersuchung von Flüssigkeiten.)

Bei embryologischen und zoologischen Untersuchungen ist seit längerer Zeit die Methode im Gebrauch, die Organe, resp. Thiere in toto zu färben; insbesondere hat man alkoholische Färbeflüssigkeiten zusammengesetzt, welche zu gleicher Zeit mit der Härtung auch die Färbung der Präparate besorgen. Man hat dann den Vortheil, dass der Schnitt fast direkt von dem Microtom auf den Objektträger zur Untersuchung gebracht werden kann; abgesehen von der Kürze und Bequemlichkeit des Verfahrens läuft man bei demselben auch viel weniger Gefahr, den Schnitt bei den verschiedenen Manipulationen des Färbens, Abspülens etc. zu schädigen resp. zu verderben. Indessen ist doch diese Methode für unsere Zwecke nur selten geeignet; wir haben in vielen, ja in den meisten Fällen zunächst die Aufgabe, ein bestimmtes Urtheil über einen concreten, praktischen Fall abzugeben und müssen demnach uns stets die Möglichkeit wahren, die betreffenden Präparate nach möglichst vielen Richtungen hin zu prüfen. Wir würden gleichsam mit gebundener Marschroute arbeiten, wenn wir die Methode der Normal-Anatomie urtheilslos übernehmen wollten; die Verhältnisse sind total andere. Der Normal-Anatom untersucht z. B. beliebig viele Bulbi zur Entscheidung einer wissenschaftlichen Frage; ein jeder normale Bulbus ist ihm dafür gleichwerthig, zu jeder Variation der Methode kann er ein neues Exemplar benutzen. Wir dagegen sind oft auf das eine vorliegende Exemplar beschränkt, an diesem haben wir die eingetretenen Structurveränderungen zu constatiren. Zu diesem Zweck müssen wir uns bemühen, aus dem möglichst wenig veränderten Präparat (event. durch Frieren, Alkoholhärtung etc.) eine Reihe von Schnitten veränderter

Partien zu gewinnen, die wir dann als etwa gleichwerthige Exemplare betrachten können; dann haben wir die Möglichkeit, diese Schnitte nach verschiedenen Methoden zu behandeln, mit ihnen zu experimentiren, um die Natur der Veränderungen nach allen Richtungen hin zu studiren. Wir können niemals wissen, auf welche Ueberraschungen wir in der Tiefe der pathologisch veränderten Organe stossen, deshalb ist die einfache, möglichst wenig eingreifende Vorbereitung der Präparate bis zu ihrer Zerlegung für uns das Beste.

Unmöglich können wir uns schon vor Beginn der Untersuchung an eine bestimmte Methode binden, sondern müssen uns die Möglichkeit erhalten, je nach dem Ergebniss der Untersuchung, welches wir von vornherein noch nicht kennen, die weiteren, sich als nothwendig ergebenden Wege einzuschlagen.

Wir werden deshalb die Technik der Färbung der Organe in toto nur kurz besprechen; wer sie anzuwenden wünscht, findet die nothwendigen Fingerzeige bei Grenacher, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14, und P. Meyer, Mittheilungen aus der zool. Station zu Neapel, Bd. 2, 1880.

12. Jod.

Diese älteste der Färbesubstanzen, welche für mikroskopische Untersuchungen zur Anwendung gekommen sind, wird auch heute noch sehr häufig benutzt und zwar gewöhnlich in der Form der Lugol'schen Lösung; das Jod, in destillirtem Wasser unlöslich, wird in einer Jodkaliumlösung leicht gelöst. Man benutze:

Jod. pur. . . 1,0
Kal. jod. , . 2,0
Aq. destill. . 50,0

diese Lösung kann nach Bedarf beliebig verdünnt werden.

Die Jodfärbungen lassen sich in Wasser und Glycerin nur schwer und nicht auf lange Zeit conserviren; das Jod ist immer nur locker mit den organischen Substanzen verbunden und verdunstet allmälig, wobei dann die Färbung erlischt. Selbst bei sorgfältiger Verkittung der Präparate pflegt die Färbung spätestens nach einigen Jahren verloren zu gehen. In Canadabalsam sind sie gar nicht zu conserviren, da die Jodfärbung durch den Alkohol sofort extrahirt wird. Dagegen bleibt die Jodfärbung in Präparaten, welche in dicker Gummilösung liegen, gut erhalten.

Durch die Jodlösung werden die eiweissartigen Substanzen leicht gelb gefärbt, ebenso die leimgebenden und colloiden; gewöhnlich wird die Färbung der Zellen stärker als die der Zwischensubstanz und die der Kerne etwas stärker als die des Protoplasma. Man kann demnach durch eine sehr schnelle und bequeme Färbung an frischen Schnitten die zelligen Elemente hervorheben, z. B. die Zellstränge in Carcinomen etc.

Die rothen Blutkörper werden durch die Jodfärbung dunkelbraun gefärbt.

Eine besondere Reaction erhalten wir von der Jodlösung hauptsächlich bei folgenden Substanzen:

Glycogen,
Corpora amylacea,
Amyloid.

Glycogen.

In vielen Knorpelzellen, z. B. denen der Chorda dorsalis, der Wucherungsschicht der Epiphysenknorpel schon im Normalzustande, ganz besonders reichlich aber bei der Rhachitis, sowie in Enchondromen, erhält man eine intensiv weinrothe Färbung mit der Jodlösung, theils der ganzen Zellsubstanz, theils einzelner Partieen derselben. Die Reaction tritt am besten bei recht blasser Färbung der übrigen Substanz hervor.

Die Rothfärbung beruht auf dem Gehalt der Zellen an Glycogen, wie Neumann und Jaffé nachgewiesen haben; ohne Jodfärbung zeigen die glycogenreichen Partien oft eine homogene, glänzende Beschaffenheit. Dasselbe Verfahren kennt man nach einer Entdeckung von Cl. Bernard schon sehr lange von den Zellen der Chorionzotten und anderen embryonalen Gebilden. An den Leberzellen haben Bock und Hofmann den wechselnden Glycogengehalt ebenfalls durch Jodfärbung studirt; im normalen, geschichteten Plattenepithel, sowie in üppig wuchernden Carcinomen fand Schiele, ein Schüler von Langhans, ebenfalls reichlich Glycogen.

Ein grosser Theil des Glycogens wird, wie Ehrlich fand, bei dem Aufenthalt der Schnitte in wässerigen Lösungen (in Alkohol ist das Glycogen bekanntlich unlöslich) aus den Zellen ausgezogen und entgeht in Folge dessen der Beobachtung; er wendet deshalb, um die Lösung, resp. Diffusion des Glycogens zu vermeiden, eine mit Mucilago gummi arabici versetzte, dünne Jodlösung an, in welcher dann die Präparate direkt untersucht und conservirt werden. Ehrlich fand bei Anwendung dieser Methode, dass bei Diabetes regelmässig grosse Mengen von Glycogen in den Epithelzellen der Harncanälchen der Niere, und zwar besonders in der Grenzschicht zwischen Rinde und Mark vorkommen.

Auch Jodglycerin (Jodjodkaliumlösung, zur Hälfte mit Glycerin versetzt) empfiehlt Barfurth[1]) zum Nachweis des Glycogens. Für die Untersuchung bei starker Vergrösserung verdient diese Methode vor der Ehrlich'schen den Vorzug, da sie klarere Bilder liefert.

Corpora amylacea.

Bekanntlich werden Amylumkörner durch Jod intensiv blau gefärbt: sie kommen im Magen- und Darminhalt und in der Mundhöhle häufig vor

[1]) Archiv f. mikroskopische Anatomie. 1885.

und werden an der Jod-Reaction sicher erkannt; ausserdem findet man sie nicht selten als zufällige Verunreinigungen. Eine gewisse, indessen rein äusserliche Aehnlichkeit mit Amylumkörnern haben die sogenannten corpora amylacea, die im Nervensystem bei degenerativen Processen und bei älteren Individuen in der weissen Substanz des Gehirns und Rückenmarks fast regelmässig gefunden werden; sie finden sich da, wo die Nervensubstanz langsam zu Grunde geht und sind wohl als Endprodukte atrophischer Processe der Nervenfasern anzusehen. Mit Jod nehmen sie eine rosa bis weinrothe Färbung an. Weiterhin bezeichnet man auch als corpora amylacea gewisse Concretionen, die zuweilen in der Lunge und sehr häufig in der Prostata gefunden werden. Alle diese wasserhellen oder gelbbräunlichen, bis dunkelbraunen Körper werden charakterisirt durch eine concentrische Schichtung und durch eine mehr oder weniger intensive Färbung mit Jod; der Farbenton variirt von weinroth bis braunschwarz. Ueber ihre Natur und Bedeutung ist wenig bekannt, mit Amylum haben sie nichts zu thun, ebensowenig mit Amyloid.

Amyloid.

Die amyloide Substanz ist durch ihre weinrothe Färbung mit Jod charakterisirt; auch hier benutzt man am besten ganz schwache Lösungen von Cognacfarbe, um die Reaction im Verlaufe einiger Minuten allmälig, aber desto schöner und reiner eintreten zu lassen. In vielen Fällen von Amyloid-Degeneration verändert sich die Farbe bei Zusatz von Schwefelsäure in einen dunkelgrünen bis blauen Farbenton; man legt die mit Jod nicht zu stark, nur hellgelb, gefärbten Schnitte in ein Schälchen mit 1 procentiger Schwefelsäure und sieht die Reaction entweder sofort oder nach einigen Minuten eintreten. Wie erwähnt, tritt diese Blau- resp. Grünfärbung — durch welche die degenerirten Partien viel intensiver von ihrer Umgebung abgehoben werden, als durch die einfache Jodfärbung — nicht in allen Fällen von Amyloid-Degeneration ein; in vielen Fällen verändert die Schwefelsäure den Farbenton gar nicht, sondern bewirkt nur eine etwas gesättigtere Braunrothfärbung. Weiterhin findet man in vielen Fällen von Amyloid, dass einige der degenerirten Elemente mit Jod und Schwefelsäure grün resp. blau werden, während andere lediglich dunkelrothe Färbung annehmen: in mehreren Fällen wurden z. B. die Arterien und Vasa afferentia der Niere dunkelroth, die Glomerulusschlingen dagegen tiefblau. Dieses durch seine Regelmässigkeit äusserst frappante Farbenbild kommt, wie es scheint, nicht sehr häufig zur Beobachtung; dagegen findet man oft z. B. an amyloiden Arterien grösstentheils rothe Färbung, nur einige eingesprengte Partien blau gefärbt. Möglicherweise hängen diese Färbungsdifferenzen mit Alterszuständen des Amyloid zusammen, indem die jüngeren Stellen mit Jod und Schwefelsäure roth, die älteren blau gefärbt werden; so sah ich an der Milz mehrmals die Arterien und Capil-

laren der stark vergrösserten Follikel blau werden, während die Gefässe der weniger stark — also präsumtiv jünger — erkrankten Pulpa roth gefärbt waren. Anderweitige Differenzen dieser beiden, verschiedenen Arten des Amyloid sind bisher nicht zu eruiren; sowohl ohne Färbung als bei der Tinction mit Anilinfarben findet man nur eine gleichmässige Beschaffenheit, da wo die Behandlung mit Jod-Schwefelsäure die brillante Farbendifferenz zu Tage treten lässt.

Die Reaction mit Jod ist für die mikroskopische Diagnostik des Amyloids bisher nicht zu entbehren; die homogene, glänzende Beschaffenheit theilt das Amyloid mit anderen, colloiden und hyalinen Substanzen, welche letztere mit Jod nur schwach gelb gefärbt werden. Auch die Rothfärbung bei Behandlung mit violetten Anilinfarbstoffen ist, wie es scheint, nicht immer charakteristisch; z. B. gelingt es häufig, die Harncylinder mit Anilinviolett roth zu färben, während sie mit Jod nur gelb (resp. braun bei zu starker Einwirkung) gefärbt werden [1]). Es ist daraus zu folgern, dass auch die mit Anilin roth gefärbten Cylinder nicht aus eigentlich amyloider Substanz bestehen, vielleicht stellen sie eine Vorstufe des Amyloids dar.

Die chemische Natur der Amyloidsubstanz ist vielfach studirt; man weiss, dass sie eine stickstoffreiche, den Eiweisskörpern nahestehende Substanz ist. Dagegen ist die Ursache der Jod- und Jodschwefelsäurereaction, von welcher das Amyloid den sehr unpassenden Namen erhalten hat, noch völlig unbekannt; wir wissen nichts über die rothe Jodverbindung und über den blauen Körper, in den die letztere durch Schwefelsäure übergeführt wird.

Das Vorkommen des Hyalins neben dem Amyloid lässt auf verwandtschaftliche Beziehungen beider Körper schliessen. Der sichere Beweis, dass erstere eine Vorstufe der letzteren, ist jedoch noch nicht gebracht. (Vergl. auch Färbmethoden: Methylviolett, Methylgrün und Jodgrün als Reagentien für Amyolid.)

Auch das Cholestearin wird in dünner Jodlösung ziemlich dunkel gefärbt; lässt man unter dem Deckglase einen Tropfen starke Schwefelsäure zutreten, so erhält man an den Ecken der Tafeln ebenfalls eine schön blaue Färbung.

13. Carmin.

Die Einführung der Carminfärbung datirt vom Jahre 1858, wir verdanken sie Harting und Gerlach.[2])

[1]) Uebrigens färben sich in gewissen Fällen die Cylinder auch mit Jod rothbraun. (Friedländer.)

[2]) Carmin ist der Farbstoff der Cochenille, einer auf Cacteen lebenden Schildlaus. Man verwende nur die beste Marke, das Carmin Nakarete. Dieser Farb-

a. Carmin-Ammoniak.

Nach der ursprünglichen Gerlach'schen Vorschrift wurde der Carmin in Ammoniak gelöst; man nehme etwa einen Theil feinst pulverisirter Carmin, füge dazu einen Theil Liq. ammon. caust. und fünfzig bis hundert Theile Wasser; die Mischung bleibt 24 Stunden lang offen stehen, um den grössten Theil des Ammoniak abdunsten zu lassen, und wird dann filtrirt. Erst nach längerer Zeit wird der Carmin brauchbar.

Je weniger freies Ammoniak die Lösung enthält, desto schonender wirkt sie auf die Gewebe; die Lösung muss indessen oft erneuert werden, da sie durch Schimmelbildung etc. leicht verdirbt.

Das carminsaure Ammoniak färbt eine grosse Zahl der im Thierkörper vorkommenden Substanzen und zwar sehr rasch schon in starker Verdünnung, die Färbung ist echt, d. h. beständig, besonders, wenn der Schnitt nach dem sorgfältigen Auswaschen in eine dünne Essigsäure (behufs Fixation) gebracht worden ist. Hat man die Auswaschung nicht ganz correct vorgenommen, so wird das Präparat durch den in der Säure eintretenden, körnigen Carminniederschlag vollständig verdorben.

Gefärbt werden: das Protoplasma und die Kerne fast aller Zellen, die fibrilläre Grundsubstanz des Bindegewebes, die quergestreiften und glatten Muskelfasern, die Grundsubstanz des osteoiden Gewebes und des entkalkten Knochens, das Fibrin, die Glia des Centralnervensystems, die Axencylinder der Nerven, die meisten colloiden Substanzen etc. Ungefärbt bleiben hauptsächlich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, das elastische Gewebe, die Hornsubstanz, die Markscheiden der Nerven, das Fett, die Schleimsubstanz, der verkalkte Knochen etc.

Im Gebrauch ist das Carmin-Ammoniak hauptsächlich für Untersuchungen des Nervensystems, zur Darstellung der Axencylinder.

Das Nervensystem wird, wie erwähnt, meist in Lösungen von Chromsalzen gehärtet; je länger der Aufenthalt in den letzteren gewährt hat, desto schwieriger und langsamer pflegt die Färbung vor sich zu gehen; es dauert oft mehrere Tage, bis die genügende Färbungsintensität erreicht wird. Besonders wenn man es mit sehr feinen Axencylindern zu thun hat (z. B. am Opticus), die demnach eine sehr intensive Färbung beanspruchen, tritt dieser Uebelstand störend hervor. Man kann in diesen Fällen die Färbung beschleunigen resp. intensiver herstellen, indem man die Farbelösung in einen auf etwa 50° erwärmten Raum bringt (Ober-

---

stoff ist nicht einfache Carminsäure, sondern nach Liebermann eine Thonerdekalkproteinverbindung des Carminfarbstoffs. Die Bereitungsweise des Carmins scheint sich in den letzten Jahren geändert zu haben, wenigstens klagen in der Carminfärbung bewanderte Forscher darüber, dass der Carmin für mikroskopische Zwecke nicht mehr das leistet, wie früher.

steiner); die Färbung tritt unter diesen Umständen schon binnen etwa einer Stunde in ausreichender Weise ein. Von Henle und Merkel rührt eine andere, sehr empfehlenswerthe Methode her: Man bringt den Schnitt zuerst in eine Lösung von Chlorpalladium (1 : 5000) für etwa 10 Minuten, dann ist er strohgelb gefärbt, und kommt darauf in die Carminlösung; schon nach wenigen Minuten ist er tief roth gefärbt und wird nach sorgfältigem Auswaschen in Wasser, Entwässern in Alkohol, Aufhellung in Nelkenöl untersucht. Die Markscheiden sind bei dieser Methode gelb, die Glia, Ganglienzellen und Axencylinder intensiv roth gefärbt. Will man ausserdem noch die Kerne hervorheben, so kann man sie sehr schön an dem mit Carmin gefärbten Schnitt nachträglich durch Hämatoxylinfärbung (vgl. Hämatoxylin S. 91) darstellen; derartige Doppelfärbungen sind besonders für Untersuchung der secundären Degeneration des Rückenmarks, Sclerose, Tabes etc. sehr zu empfehlen. Oft stört die diffus rothe Färbung der Neuroglia an derartig behandelten Präparaten; um diese zu entfernen, legt Ranvier die Schnitte nach der Carminfärbung in Ameisensäure 1 Thl., Alkohol 2 Thl., für 5—10 Stunden; dann bleiben Axencylinder und Kerne roth, die Glia wird entfärbt. (Compt. rend. 1883 Nov.)

Ausserdem wird das Carminammoniak meist nur noch für Untersuchung des Knochensystems verwendet, auch hier eignet sich eine Doppelfärbung (mit Hämatoxylin) sehr gut. Besonders bei Untersuchung der Rhachitis und Osteomalacie, welche am besten an frischen Präparaten, d. h. ohne künstliche Entkalkung, vorgenommen wird, ist die Hervorhebung des osteoiden Gewebes durch das Carminammoniak von wesentlichem Werth.

Andere Carminfärbungen.

Es sind eine grosse Menge von Modificationen der Carminfärbung vorgeschlagen und empfohlen worden; wir führen nur einige derselben hier an, die für pathologisch-anatomische Zwecke von besonderem Werthe sind.

b. Picrocarmin. (Schwarz, Ranvier.)

Der Picrocarmin der Droguisten ist für gewöhnlich unbrauchbar; nach Weigert setzt man diesem eine geringe Menge Essigsäure zu, um eine gut färbende Substanz zu erhalten; tritt dabei ein Niederschlag ein, so wird derselbe durch eine Spur Ammoniak leicht gelöst.

Friedländer bereitet ein sehr rasch färbendes Picrocarmin nach folgender Vorschrift:

Zu einem Theile ammoniakalischer Carminlösung (1 Carmin, 1 Ammoniak, 50 Wasser) giesst man unter fortwährendem Umrühren allmälig, zuletzt nur tropfenweise, zwei bis vier Theile einer gesättigten Lösung von Picrinsäure, und zwar so lange, bis der anfänglich entstehende Niederschlag beim Umrühren nicht mehr gelöst wird; je reicher der Gehalt an Ammoniak,

desto grösser ist die nothwendige Menge von Picrinsäure. Die Flüssigkeit wird dann filtrirt, behufs der Conservirung setzt man zu je 100 ccm. derselben einige Tropfen Phenol, eine etwaige, später eintretende Trübung wird durch Zusatz einer Spur Ammoniak leicht gelöst.

Diese Färbeflüssigkeit ist für viele Zwecke sehr brauchbar; sie bewirkt innerhalb weniger Minuten eine Doppelfärbung: die sämmtlichen Kerne werden intensiv roth, eine schwach rothe Nuance erhält die fibrilläre Substanz des Bindegewebes etc., dagegen werden die protoplasmatischen Substanzen, die glatten und quergestreiften Muskelfasern, die Hornsubstanz, die meisten hyalinen und colloiden Substanzen etc. mehr oder weniger intensiv gelb.

Die Differenz wird oft noch frappanter, wenn die Schnitte nach der Färbung für eine halbe Stunde in ein Schälchen mit salzsäurehaltigem Glycerin (ein Theil Salzsäure auf 400 Theile Glycerin) gebracht werden; die Picrocarminlösung färbt nämlich besonders schnell und intensiv, wenn sie noch etwas freies Ammoniak enthält; in diesem Falle überwiegt aber zunächst die Carminfarbe. Erst durch die Behandlung mit dem säurehaltigen Glycerin wird dann der rothe Farbstoff aus den protoplasmatischen und Zwischensubstanzen etc. entfernt, so dass die gelbe Picrinfärbung derselben zur Geltung kommt (Neumann); dagegen wird gleichzeitig in den Kernen der rothe Farbstoff fixirt. Es ist noch zu bemerken, dass die Rothfärbung der Kerne (in neutralen oder saueren Flüssigkeiten) dauernd bleibt, dagegen die gelbe Picrinfärbung ziemlich schnell ausgelaugt wird; zur Erhaltung des gelben Farbentones in den Präparaten pflegt man dem anzuwendenden Wasser, Glycerin und Alkohol eine geringe Menge Picrinsäure zuzusetzen, bis zu leicht gelblicher Färbung. Dann lassen sich die Picrocarminfärbungen sowohl in Glycerin wie in Canadabalsam sehr gut conserviren.

Wegen der sehr bequem herzustellenden Doppelfärbung, der scharfen Hervorhebung der Kerne einerseits, andererseits des Protoplasma's der hyalinen Substanzen, des Horns, der glatten Muskelfasern etc. ist der Picrocarmin ein sehr schätzenswerthes Mittel, ebenso für das Nerven- und Knochensystem, viele Drüsen etc.

Picrocarmin von Bizzozero.

Reiner Carmin 0,50 gr. wird gelöst in:

Ammoniak . 3 ccm. und

Wasser . . 50 ccm.

Unter beständigem Umrühren wird zu dieser Lösung eine Lösung von

Picrinsäure 0,50 in 50 gr. Wasser

gegossen. Man verdampft im Wasserbade, bis kein Ammoniakgeruch mehr wahrgenommen wird. Die Flüssigkeit ist auf die Hälfte ihres Volumens verdünnt (50 ccm.). Man lässt nun erkalten und fügt sofort $^1/_5$ des Vo-

lumens (10 ccm.) reinen Alkohol zu. Man bewahrt in sorgfältig geschlossener Flasche auf. Filtriren vor dem Gebrauch ist unnöthig.

Löslicher Natroncarmin von Cuccati.

Carmin pulverisirt 30 gr., warmes, destillirtes Wasser 750 ccm., worin 100 gr. krystallisirte Soda gelöst wird. Man mischt die Substanzen, erwärmt und giebt 50 ccm. absoluten Alkohol zu. Nach 10 Stunden wird filtrirt, verdünnt mit Wasser und 50 ccm. Essigsäure zu 20 pCt. zugesetzt. Zu dieser Mischung werden dann noch 20 gr. Chloralhydrat gegeben.

Man verdampft nun die Flüssigkeit bei 60 °. Der Rückstand wird pulverisirt und in Wasser gelöst und absoluter Alkohol zugefügt, 20 ccm. zu 100 gr. der Lösung. Entfärbung in saurem Alkohol.

c. Borax-Carmin. (Grenacher).

Carmin . . .	0,5
Borax . . .	2,0
Aq. destill. .	100,0

in einer Porzellanschale gemischt, zum Kochen erwärmt; zu der blaurothen Flüssigkeit wird unter fortwärendem Umrühren tropfenweise verdünnte Essigsäure (etwa 5 pCt.) zugesetzt, bis die Färbung umschlägt und in die der ammoniakalischen Carminlösung übergeht; dann 24 Stunden stehen lassen, decantiren und filtriren; zur Conservirung werden einige Tropfen Phenol zugesetzt.

Ein in diese Lösung eingebrachter Schnitt wird in kürzester Zeit schon in wenigen Minuten intensiv gefärbt; die Färbung ist indessen ganz diffus und in Folge dessen unbrauchbar. Dagegen erhält man die isolirte Kernfärbung, wenn man den intensiv gefärbten Schnitt in ein mit salzsäurehaltigem Alkohol gefülltes Schälchen einbringt:

Salzsäure . .	1,0
Alkohol . . .	70,0
Aq. destill. . .	30,0

Der Schnitt giebt sofort einen Theil des Farbstoffes ab, umgiebt sich mit einer rothen Wolke; nach einigen Minuten bis einer halben Stunde wird er ausgewaschen (in Wasser oder in Alkohol) und in Glycerin oder in Nelkenöl untersucht.

Diese Methode giebt intensive Kernfärbung; man muss indessen bei ihrer Anwendung die Wirkung der Salzsäure mit in Kauf nehmen, resp. in Rechnung ziehen, Auflösung des Kalks, Aufquellung des Fibrins, des Protoplasma, der fibrillären Substanz etc.

Borax-Carmin eignet sich besser wie andere Farbstoffe zur Vorfärbung grösserer Stücke

d. Carmin-Alaun. (Grenacher.)

Ein Gramm Carmin wird mit 100 ccm. einer 5 procentigen Alaunlösung erwärmt; man lässt 20 Minuten lang kochen und filtrirt nach dem Erkalten.

Innerhalb 6—10 Minuten erhält man mit dieser Lösung eine nahezu reine Kernfärbung, nicht ganz so intensiv wie mit der vorigen.

Man kann aber die Schnitte auch länger in der Farbe lassen, ohne Ueberfärbung befürchten zu müssen. Man wäscht mit Wasser aus. Die Färbung ist nicht die dauerhafteste und nicht sehr intensiv.

e. Cochenille-Alaunlösung (nach Partsch und Czokor.)

Ein Theil feinste Cochenille (die Muttersubstanz des Carmin) und ein Theil Alaun werden mit 100 Theilen Wasser erwärmt und bis auf etwa die Hälfte des Volumens eingekocht; eine Spur Phenol zugesetzt, filtrirt.

Die Wirkung ist ganz ähnlich wie die der vorigen Lösung; Kerne und Axencylinder in Schnitten des Central-Nervensystems werden nach vorangegangener Härtung in Chromsalzen innerhalb 24 Stunden gefärbt, und zwar haben die Kerne einen anderen, mehr violetten Farbenton, als die Axencylinder.

f. Lithion-Carmin. (Orth.)

In 100 Theile einer gesättigten Lösung von Lithion carbonicum werden $2^1/_2$ Theile Carmin gelöst; die Färbung der Schnitte geschieht in wenigen Minuten; nach Entfärbung in salzsäurehaltigem Alkohol (1 Theil Salzsäure auf 100 Theile 70 procentigem Alkohol) tritt prachtvolle Kernfärbung hervor.

Picro-Lithion-Carmin wird dargestellt, indem man zu der obigen Lösung 2—3 Theile einer gesättigten Picrinsäurelösung hinzufügt. Die Färbung tritt ebenfalls sehr rasch ein und gewährt den Vortheil der Doppelfärbung, wie bei Picrocarmin. Auch hier kann man nachträglich mit salzsäurehaltigem Alkohol oder Glycerin ein wenig entfärben, wodurch die Differenzirung noch stärker wird. — Die Lösung ist auch sehr haltbar.

14. Haematoxylin.

Die Weigert'sche Färbung des Central-Nervensystems.

Die Haematoxylinfärbung gehört zu den sichersten und vorzüglichsten Methoden, um die Kerne intensiv hervortreten zu lassen.

Die Krystalle des Haematoxylin lösen sich sehr leicht in Alkohol zu einer bräunlichen Tinctur; giebt man eine kleine Menge dieser Tinctur zu einer wässerigen Alaunlösung, so erhält man in wenigen Minuten eine bläulich gefärbte Flüssigkeit, deren Tinctionsvermögen indessen erst im Laufe einiger Tage seine volle Höhe erreicht; zu gleicher Zeit, oder bald danach, beginnt dann auch eine körnige Ausscheidung des Farbstoffs, wodurch die Präparate verunreinigt werden. Die Lösung muss demnach vor dem Gebrauch stets frisch filtrirt werden.

Böhmer's Haematoxylin.

Krystallisirtes Haematoxylin (1 gr.) wird in absolutem Alkohol (10 ccm.) gelöst. Alaun (10 gr.) wird in 200 ccm. warmen, destillirten Wassers gelöst und nach dem Erkalten filtrirt. Nach einigen Stunden werden beide Lösungen zusammen gegossen und bleiben in weit offenen Gefässen mehrere Tage (eine Woche) stehen. Darauf wird filtrirt. Die Mischung ist zum Gebrauch fertig.

Friedländer's Haematoxylin.

Haematoxylin .	2,0
Alkohol . . .	100,0
Aq. destill. . .	100,0
Glycerin . . .	100,0
Alaun . . .	2,0

Ehrlich's Haematoxylin.

Haematoxylin-Lösungen zersetzen sich unter Bildung eines blauen Niederschlags, der durch Dissociation des Alauns in basische, lackbildende Thonerde-Verbindung und freie H_2SO_4 bedingt ist. Durch Zusatz von Säuren hat Ehrlich die Ausscheidung basischer Lackverbindungen verhütet. Die Ehrlich'sche Lösung besteht aus:

Wasser . . .	100 ccm.
Alkohol absol.	100 „
Glycerin . ,	100 „
Eisessig . .	10 „
Haematoxylin	10 „
Alaun im Ueberschuss.	

Das Gemisch reift am Lichte längere Zeit, bis es eine gesättigt rothe Farbe angenommen hat. Sobald dies erreicht ist, bleibt das Färbungsvermögen ein constantes (durch Jahre). Ist für genügenden Schluss des Gefässes gesorgt, so treten Niederschläge nie auf. Nach Bedarf können dieser Lösung zu Doppelfärbung freie Farbsäure (z. B. Eosin) oder Farbbasen zugesetzt werden.

Für Bluttrockenpräparate verwendet Ehrlich das saure Haematoxylin-

Eosingemisch, welches die Leukocythenkerne violett, die Blutscheiben roth färbt.

Schnitte (von Alkohol-Bichromathärtung) werden binnen wenigen Minuten ohne jede Ueberfärbung distinct gefärbt. Das Gemisch eignet sich auch besonders zur Durchfärbung ganzer Stücke.

Der Schnitt wird in destillirtem Wasser ausgewaschen und färbt sich bald intensiv blau [1]). Wir finden dann eine fast isolirte Färbung der Kerne und der (meisten) Schizomyceten. Sind auch andere Gewebselemente mitgefärbt, so ist salzsäurehaltiger Alkohol zur Entfärbung zu verwenden; die Kernfärbung bleibt dabei gut erhalten. Für viele Zwecke ist ausserdem noch eine Färbung der protoplasmatischen Substanz wünschenswerth; dieselbe kann durch eine nachträgliche Färbung mit Picrinsäure (gesättigte Lösung) oder mit Eosin hergestellt werden. (Siehe unter Eosin.) Die mit Haematoxylin gefärbten Präparate werden in Glycerin allmälig entfärbt, man conservirt sie deshalb am besten in Canadabalsam.

Haematoxylin von Delafield.

Gesättigt wässerige Lösung von:

	Ammoniakalaun	400 ccm.
	Krystallisirtes Haematoxylin	4 gr.
gelöst in	Alkohol	25 ccm.

Dem Licht ausgesetzt in offener Flasche vertieft sich die Farbe, und es entsteht ein leichter Niederschlag. Nachdem die Lösung 3 bis 4 Tage der Luft und dem Licht ausgesetzt war, wird sie filtrirt, und 100 ccm. Glycerin und ebensoviel Methylalkohol zugegeben. Die Lösung bleibt stehen, bis die Farbe genügend dunkel ist, wird filtrirt, in einer fest verschlossenen Flasche aufbewahrt und zum Gebrauch nach Bedarf mit Wasser verdünnt.

Heidenhain's Haematoxylinfärbung.

Die Lösung erzielt schwarze Färbung. Hierzu dienen eine wässerige Lösung von Haematoxylin 1 pCt. (A), eine $^1/_2$—1 procentige Lösung von Kali bichrom. (B).

Kleine Stücke in Alkohol gehärteter Organe kommen zuerst in 8—10 ccm. der Lösung A und nach 8—10 Stunden ebenso lange in die gleiche Menge der Lösung B. Haben die Stücke dann eine schwarze Färbung angenommen, so wird das überschüssige, doppelt chromsaure Kali durch

[1]) Die Färbung wird um so intensiver, je länger die Schnitte in Wasser der Luft ausgesetzt sind. Eine sehr gute Farbflüssigkeit liefern die zur Filtration von Hämatoxylin längere Zeit benutzten Filter. Man übergiesst sie mit reinem Wasser, filtrirt nach mehrstündigem Stehen den Auszug, dampft etwas ein und giebt Glycerin und Alkohol zu.

Wasser entfernt, darauf Entwässerung durch Alkohol, Einbettung in Paraffin etc.

Die Präparate zeichnen sich durch das scharfe Structurbild aus. Für Leber und Niere scheint die Methode weniger geeignet.

Apathy hat diese Methode etwas modificirt.

Die nach Heidenhain's Methode gefärbten Präparate gewinnen durch Kerntinctionen mit Alauncarmin und Haematoxylin.

Benda's Methode[1]).

Die Schnitte bleiben 24 Stunden bei 40° C. in concentrirter Lösung von neutralem, essigsaurem Kupferoxyd, werden dann sorgfältig gewässert, in wässeriger Haematoxylinlösung dunkelgrau bis schwarz gefärbt, dann in sehr dünner Salzsäurelösung (1 : 500) so lange entfärbt, bis sie ein ziemlich helles Gelb zeigen. Die Säure wird jetzt (am besten in Kupferlösung) neutralisirt, wobei die Schnitte hellblau werden. Schliesslich Auswaschen, Entwässerung und Einschluss in Canadabalsam. Die Präparate zeigen fast schwarze Tinction der Mitosen.

Eosin-Haematoxylinlösung von Renaut.

Concentrirte, wässerige Eosinlösung (eosinsaures Kali)	30 ccm.
Abgestandene, gesättigte Auflösung von Haematoxylin in Alkohol	40 „
Mit Kali-Alaun gesättigtes Glycerin (von etwa 1,26 spec. Gew.)	130 „

Die Mischung bleibt 5 bis 6 Wochen in einem mit durchlöchertem Papier bedeckten Gefäss stehen, bis sämmtlicher Alkohol verdunstet ist, und wird nun filtrirt. Man kann das Filtrat mit Glycerin noch verdünnen. Die Färbung erfolgt langsam und lässt sich anfangs wieder ausziehen. Nach einigen Wochen ist die Localisirung der Nuancen vollendet. Für Balsameinschluss Entwässerung in eosinhaltigem Alkohol.

Färbung mit Haematoxylin-Eosin.

Reines Haematoxylin (5 gr.) werden in Alkohol absol. (300 ccm.) gelöst. Hierzu werden 300 ccm. Glycerin und ebensoviel destillirtes Wasser, welche mit Alaun gesättigt sind, gegossen und endlich 15—25 ccm. Eisessig zugefügt. Die Flüssigkeit bleibt einige Tage an einem hellen Ort stehen. Dann fügt man zu 100 ccm. dieser Lösung 15 ccm. reine, wässerige Eosinlösung von 1 pCt. zu.

Weigert's[1]) Haematoxylin-Färbung des Central-Nervensystems.

Durch diese Methode gelingt die Darstellung der feinsten, markhaltigen Nervenfasern.

Die Partien des Central-Nervensystems werden in Müller'scher Lösung (vgl. S. 32 u. 74) erhärtet, kommen dann ohne vorherige Auswässerung in Alkohol.

Die Stücke werden in Celloidin eingebettet und mit Celloidin auf Kork aufgeklebt; dann kommen sie in eine Lösung von neutralem, essigsaurem Kupferoxyd, und zwar eine gesättigte Lösung des Salzes mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt; in dieser Lösung bleiben sie 1 bis 2 Tage lang im Brutofen.

Die Stücke sind nach der Kupferbehandlung grün und können in 80procentigem Alkohol aufbewahrt werden,

Zu einer Lösung von

Wasser	90,0
Gesättigter Lösung von Lithion carbon.	1,0

wird Haematoxylin in Alkohol (1 : 10) gegeben. Diese Lösung kann auch entsprechend verdünnt werden.

In diesem Gemisch bleiben die Schnitte, von ihrem Celloidinmantel umgeben, bis zwei Stunden lang, eventuell auch länger; hat man es mit Präparaten zu thun, die in Folge der Härtung etc. ausnahmsweise schwer tingirbar sind, so kann man die Färbung im Brutofen bei etwa 40° vornehmen. Die Schnitte erscheinen zunächst ganz schwarz; sie werden dann differenzirt resp. partiell entfärbt durch folgende Mischung:

Borax	2,0
Ferrid-Cyankalium	2,5
Wasser	200,0

Bald entfärbt sich der Celloidinmantel, und im Laufe von etwa einer halben Stunde hebt sich die graue Substanz deutlich gelbweiss gegen die schwarzgetärbte, weisse Substanz ab.

Nun spült man die Schnitte in Wasser gut ab (Ferrid-Cyankalium wird durch Alkohol gefällt), dann werden sie in bekannter Weise in Alkohol und Xylol eingelegt, eventuell in Canadabalsam conservirt.

Das Nervenmark tritt bei dieser Färbung durch dunkle Färbung sehr scharf zu Tage, während die Axencylinder, Ganglienzellen, Kerne etc. fast farblos bleiben.

Statt des theueren, reinen Haematoxylin empfiehlt Paneth[2]) das billigere Extrakt des Blauholzes, welches das Gleiche wie jenes leistet. Man

---

[1]) Fortschr. d. Med., Bd. II, S. 190 und Bd. III, S. 236.

[2]) Zeitschrift. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. IV, S. 213.

stellt sich aus dem Blauholz-Extrakt, wie es in Apotheken käuflich ist, eine Lösung dar, die auf 90 Theile Wasser, 10 Theile Alkohol und 1 Theil Farbstoff enthält. Vor dem Gebrauch wird filtrirt. Zu 100 ccm. dieser Lösung kommen 8 Tropfen einer concentrirten Lösung von Lithion carbon. Die Schnitte des passend erhärteten Gehirns kommen auf 24 Stunden in die Lösung von Cuprum acetic. Weigert's, dann in Alkohol von 80 pCt., dann in die Farbstofflösung auf 18 bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Hierauf Entfärbung in der Borax-Blutlaugensalzlösung.

Es ist durch Anwendung der Weigert'schen Methode gelungen, die seit lange postulirte Veränderung der grauen Substanz bei der Tabes, nach der man bisher vergebens geforscht hat, mit Sicherheit nachzuweisen, namentlich den Schwund des Netzes feiner Nervenfasern im Innern der Clarke'schen Säulen. Aehnliche Thatsachen hat man an der grauen Hirnrinde bei progressiver Paralyse nachweisen können (Tuczek).

Der Gang der Operationen bei der eben beschriebenen Weigert-schen Methode ist darnach folgender:

A. Härten in Müller'scher Flüssigkeit. (3 Monate.)
B. Einmaliges Abspülen der Präparate mit Wasser.
C. Einlegen der Präparate in Alkohol absol.
D. Celloidin-Einbettung.
E. Einlegen in neutrales, essigsaures Kupferoxyd (zwei Tage im Brutofen).
F. Conserviren in Alkohol (80 pCt.).
G. Schneiden unter Alkohol.
H. Färbung der Schnitte (2 Stunden und mehr) in Haematoxylin.
I. Differenzirung derselben (in Borax-Ferrid-Cyankalium).
K. Abspülen in Wasser.
L. Alkohol und Xylol.
M. Canadabalsam.

Falls Kernfärbung gewünscht wird, kann man die Schnitte nach dem Ausspülen in Wasser (nach der Differenzirung) in Alauncarmin bringen. Wirkt die Entfärbungsflüssigkeit (Borax-Ferrid-Cyankalium) zu stark, kann man sie verdünnen. Wollen dickere Schnitte in Ferrid-Cyankalium sich nicht genügend entfärben, kann man die Entfärbung beschleunigen, wenn man die Präparate auf 24 Stunden in Alkohol und dann wieder in die Entfärbungsflüssigkeit zurückbringt.

Pal's Verfahren[1]).

Diese Modification der Weigert'schen Haematoxylinfärbung entfärbt das zwischen den dunkelblauen Nervenfasern gelegene Gewebe vollständig, und dieses kann dann noch beliebig nachgefärbt werden.

[1]) Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 4. 1887.

Die in Weigert's Hämatoxylin (S. 95) blauschwarz gefärbten Schnitte kommen in Wasser, dem, wenn die Färbung nicht tiefblau ist, etwas Alkali (1—2 ccm. der Lithionlösung auf 100 Theile Wasser) zugesetzt werden muss.

Aus dem mehrmals erneuerten Lithionwasser kommen die Schnitte in eine Lösung von Kali hypermanganic. (¼ pCt.) 20—30 Sekunden. Die darauf in Wasser abgespülten, braun gefärbten Schnitte werden weiter in einer Säuremischung bis auf die blau bleibenden, markhaltigen Fasern entfärbt. Die Mischung besteht aus:

Oxalsäure . . .	1,0
Kalium sulfurosum ($So_3 Ka_2$)	1,0
Aq. destill. . . .	200,0

Nach 10—50 Secunden wird der Schnitt gut entwässert und mit Magdalaroth oder Eosin in 4—5 Minuten nachgefärbt. Besser sind Nachfärbungen in Picrocarmin oder essigsaurem Carmin [1]).

15. Eosin.

Das Eosin giebt eine bei durchfallendem Lichte rosaroth, bei auffallendem Lichte grünlich gefärbte, fluorescirende Lösung, welche schon bei einem Gehalt von 1 : 1000 den Schnitten in wenigen Minuten eine intensiv rosarothe Färbung ertheilt. Die Färbung ist meist eine sehr diffuse, die verschiedensten Substanzen betreffend; auch die rothen Blutkörper (an Schnitten, die aus Alkohol-Präparaten entnommen sind, noch stärker, wenn Chromsalze zur Härtung benutzt worden sind) nehmen einen intensiv rosa Ton an. Die Farbe wird durch absoluten Alkohol anfangs sehr rasch, später langsamer ausgezogen, so dass man durch dieses Mittel bei einiger Aufmerksamkeit leicht jede gewünschte Nuance der Färbung herstellen kann.

Eine reine Eosinfärbung ist nur sehr selten von Vortheil (über die eosinophilen Zellen des Blutes siehe Blut), dagegen wird das Eosin sehr oft zu Doppelfärbungen verwendet, in Combinationen mit Kernfärbungen. Des Contrastes wegen eignen sich am besten die blauen Kernfärbungen zu diesem Zwecke, also Gentiana- oder Methylviolett (s. d.) oder Haematoxylin.

Die mit Haematoxylin gefärbten Schnitte können in etwas eosinhaltigem, absolutem Alkohol entwässert und zugleich gefärbt werden.

---

[1]) Die Pal'sche Methode hat den Nachtheil, dass sie sehr rasch geht und darum leicht ein zu starkes Auswaschen mit Verlust feiner Fasern eintritt. Sie ist auch nicht gut mit Weigert's Celloidinserienmethode zu verbinden, die Schnitte müssen ziemlich dick sein, um den Transport in die verschiedenen Lösungen auszuhalten.

Auch wird die Färbung erzielt durch Oel (Bergamottöl) oder Creosot, dem etwas alkoholisches Eosin beigefügt ist. Eine ganz geringe Menge des letzteren genügt schon.

Man kann nach dem Vorgange von Renaut eine Haematoxylin-Eosinmischung herstellen, in welcher die Doppelfärbung direkt bewirkt wird; zu der von uns angegebenen Haematoxylinlösung braucht man nur etwa 0,5 Eosin hinzuzusetzen, um eine derartige Mischung zu erhalten. Die Schnitte zeigen zu Anfang gewöhnlich eine zu starke Eosinfärbung; nach kurzem Aufenthalt in Alkohol tritt dann die passende Färbungsnuance zu Tage, worauf der Schnitt gewöhnlich am besten in Nelkenöl untersucht wird.

Diese Methode ist zur Färbung von Schnittpräparaten in sehr vielen Fällen die beste und bequemste. Am intensivsten blau gefärbt erscheinen gewöhnlich die Kerne der lymphoiden Zellen, dann die der Capillaren, der sonstigen Endothelien, des Bindegewebes, weniger stark die Kerne des Epithels etc. Auch in der Färbungsintensität des Protoplasma kommen Differenzen heraus, welche schon oft für die schwache Vergrösserung die Erkennung der einzelnen Elemente ermöglichen; z. B. färben sich besonders stark die Belegzellen der Magendrüsen, die Riesenzellen der Tuberkel.

16. Anilinschwarz (Nigrosin). Anilinblau.

Diese beiden Farbstoffe wirken sehr ähnlich; sie sind zur Färbung der Axencylinder an Schnitten des Nervensystems in Gebrauch; der Schnitt kommt in eine etwa 1procentige Lösung, wird in einigen Minuten sehr dunkel tingirt, dann in Alkohol ausgewaschen und grösstentheils wieder entfärbt. Ist die passende Nuance erreicht, was leicht auszuprobiren ist, so kommt der Schnitt in Oel resp. Canadabalsam; die Axencylinder, die Ganglienzellen, weniger stark die Neuroglia zeigen eine sehr brauchbare, blaue resp. schwarze Färbung.

Ausserdem kann man sie zur Färbung des Protoplasmas verwenden; z. B. geben schon ganz schwache Lösungen eine sehr dunkle und charakteristische Färbung der Belegzellen (die früher sogenannten Labzellen) der Magendrüsen.

Platner's Kernschwarz [1]).

Kernschwarz färbt in schwächerer Concentration nur Kerne, Kernkörperchen, Axencylinder, während Protoplasma, Bindegewebe und Markscheide ungefärbt bleiben. In concentrirter Lösung, wie es in den Handel kommt, färbt es auch etwas die übrigen Bestandtheile. Zur Entfärbung dienen Alkalien, 5—6 Tropfen Ammoniak auf ein Uhrschälchen Wasser.

---

[1]) Platner, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 4, S. 349, 1887.

Noch besser ist ein Salz (Lithion carbon.). Besonders empfehlenswerth ist die Färbung für die Nebenkerne.

Zur Färbung genügen wenige Minuten, für Präparate, die in der Flemming'schen Mischung waren, sind 24 Stunden erforderlich. Die Dauer der Entfärbung ist abhängig von der vorangegangenen Färbung.

17. Die edlen Metalle.

a. Silber.

Die von v. Recklinghausen eingeführte „Silbermethode" ist für die normale Histologie von grossem Werthe; die wichtige Entdeckung, dass die Wandungen der Lymph- und Blutcapillaren, die man früher für homogen hielt, aus endothelialen Zellen zusammengesetzt sind, wurde bekanntlich durch die Silbermethode ermöglicht; noch heute ist sie für die Demonstration dieser Thatsache fast unentbehrlich. Für unsere Zwecke kommt sie nur selten zur Anwendung; am einfachsten liegt der Fall, wenn es sich um Constatirung eines endothelialen Ueberzuges an einer vorliegenden Fläche handelt, schwieriger ist es schon, wenn pathologische Veränderungen der Wände der Blut- oder Lymphgefäss-Capillaren studirt werden sollen.

Die Schwierigkeiten der Methode liegen darin, dass das angewandte Silbersalz, gewöhnlich das Nitrat, mit den eiweisshaltigen Körperflüssigkeiten körnige und fädige Gerinnungen giebt, die leicht Trugbilder erzeugen können; wogegen wir das Bestreben haben, den Silberniederschlag nur allein an den Kittleisten der Endothelzellen eintreten zu lassen. Wir können die Silbermethode daher fast nur an natürlichen Oberflächen anwenden; die Wirkung des Silbersalzes dringt nur sehr wenig in die Tiefe der Gewebe ein.

Man benutzt am besten sehr dünne Lösungen, 1 : 500; die Oberfläche wird, wenn nöthig, mit destillirtem Wasser oder mit einer dünnen Lösung von salpetersaurem Natron (2 pCt.) abgespült, dann mit einer Silberlösung übergossen, nach etwa einer Minute dann wieder mit destillirtem Wasser abgewaschen. Nach kurzer Zeit, am raschesten unter Wirkung des Sonnenlichtes, treten nun eventuell an den Grenzen der Endothelzellen dunkelschwarze Linien auf; die Kerne sind gewöhnlich nicht markirt, sie können nachträglich mit Haematoxylin etc. gefärbt werden. Der Silberniederschlag wird durch verdünntes Ammoniak leicht gelöst.

Um die Grenzen der Endothelzellen in den Blutcapillaren zu markiren, wird das Silbersalz von der Arterie aus injicirt; bei Einspritzung der Silberlösung in den Bronchialbaum erzielt man eine Färbung der Zellgrenzen des Lungenalveolar-Epithels. Wenn man der Silberlösung etwa 5 pCt. Gelatine (in der Wärme) zusetzt, so erhält man den zu Injectionen

ebenfalls sehr brauchbaren „Silberleim", der die Zellgrenzen der injicirten Hohlräume braun färbt.

Wird eine Cornea kurze Zeit in Silberlösung gebracht oder auch mit dem Lapisstift überstrichen, so kommt dann eine dunkle Braunfärbung der Grundsubstanz zu Stande, innerhalb deren die Corneakörperchen als helle strahlige Figuren, wie Lücken, hervortreten. Kernfärbung mit Hämatoxylin.

Die Silbermethode ist in dieser Weise nur an frischen Präparaten, bei denen cadaveröse Zersetzungen noch nicht eingetreten sind, anwendbar.

Golgi's Silbermethode.

Golgi verwendet den Silbersalpeter auch zur Darstellung der Ganglien- und Gliazellen des Gehirns und Rückenmarks nach Conservirung in Müller'scher Flüssigkeit, wodurch die genannten Elemente geschwärzt, d. h. mit Silberniederschlägen bedeckt werden. Durch die Härtung entstehen Spalträume um die Zellen und ihre Ausläufer, in denen sich das Metall niederschlägt, Rossbach, Edinger.

Stückchen des frischen Gehirns oder Rückenmarks werden in 200—500 ccm. Kali bichrom. von 2 pCt. oder Müller'scher Flüssigkeit, welche öfter gewechselt wird, gehärtet.

Die gehärteten Stücke kommen dann in eine Silberlösung von 0,75—1 pCt., der 5 pCt. Glycerin zugesetzt sind, auf 15—30 Tage bei 25° C.

Zur Vermeidung von Niederschlägen an der Oberfläche der Präparate werden diese, wenn sie aus dem chromsauren Kali kommen, mit einem durch Verreiben von Löschpapier in destillirtem Wasser hergestellten Brei umgeben. Die Silberlösung wird erneuert.

Nach der Silberbehandlung kommen die Präparate in Alkohol, der nochmals gewechselt wird, bis er klar bleibt. Die Schnitte werden 3—4 mal in Alkohol abgewaschen.

Aufhellen in Creosot (2—3 Minuten), Terpentinöl (15 Minuten), Einschluss in Damar, kein Deckglas.

Die Silberbehandlung giebt nicht so zarte Bilder und mehr Niederschläge als die Anwendung des Sublimats. Erstere erzeugt eine röthlich durchscheinende, chromsaure Silberverbindung. Da diese in manchen, besonders (ammoniakhaltigen) Farbstoffen sich löst, ist es zweckmässig, dieselbe, wenn man nachfärben will, durch Natriumsulfid in Schwefelsilber zu verwandeln.

Die Golgi'sche Färbung lässt sich mit der Weigert'schen Hämatoxylinfärbung verbinden. Nur müssen die Schnitte, welche durch das Sublimat resp. Silberbad von ihrem Chromgehalt viel abgegeben haben, nach sorgfältiger Waschung in Wasser für 24 Stunden in eine halbprocentige Lösung von Chromsäure gebracht werden. Dann werden sie (ohne Kupferbehandlung) in die Weigert'sche Hämatoxylinlösung gebracht und in üblicher Weise gefärbt.

Die Härtung des Gehirns wird durch Injection einer 2,5 procentigen Lösung von doppeltchromsauren Kali beschleunigt. Kleine Stücke des

Organs kommen dann 15—20 Tage in Müller'sche Flüssigkeit, welche mehrmals gewechselt wird. Darauf werden sie für 24 Stunden in ein Gemisch von 8 Theilen Müller'scher Flüssigkeit oder Bichromat (2,5 pCt.) und 2 Theile Osmiumsäure (1 pCt.) gebracht und dann in Silberlösung (¾ pCt.), welche nach ½ Stunde, und falls weitere, gelbe Niederschläge sich gebildet haben sollten, noch einmal gewechselt wird. Hier können die Schnitte Tage eventuell Monate bleiben. Nachhärtung in Alkohol, Origanum- oder Nelkenöl, Damarharz. Die Präparate werden ohne Deckglas aufbewahrt.

b. Quecksilber. Golgi's Sublimatmethode.

Ganglien- und Gliazellen (aber nicht alle) des Gehirns und Rückenmarks werden durch Behandlung mit Sublimat mit einem feinen, krystallinischen Niederschlag bedeckt, der im durchfallenden Licht schwarz erscheint. (Golgi.)

Stücke des Gehirns und Rückenmarks von 2—3 cm. Durchm. werden 6 Wochen[1]) in Müller'scher Flüssigkeit 200—500 ccm., die öfter erneuert wird, gehärtet. Darauf kommen die Stücke in eine wässerige Sublimatlösung 0,25 pCt., die so oft erneuert wird, als sie sich noch gelb färbt. Die Concentration der Lösung kann bis 1 pCt. gesteigert werden. Nach 8—10 Tagen, besser noch später, ist die Reaction eingetreten. Die Stücke werden aufgeklebt, geschnitten und gut ausgewaschen.

Pal's Modification der Golgi'schen (Sublimat) Methode.

Sie besteht in der Nachbehandlung der Schnitte mit einer Lösung von Natrium sulfid. (Na_2 S.). Die Bilder erscheinen schärfer. 100 gr. Aetznatron werden in 1000 gr. Wasser gelöst; die Hälfte dieser Lösung wird mit Schwefelwasserstoff gesättigt, zu der andern Hälfte gegossen und in gut verschlossener Flasche aufbewahrt. Die Schnitte der Sublimatpräparate werden nach sorgfältigem Waschen in die Lösung gebracht, wo sie einige Minuten bleiben, bis die weissen Flecke schwarz werden. Die Nachbehandlung wie sonst.

c. Gold.

Die von Cohnheim eingeführte Chlorgoldmethode dient zur Fixation von Gewebselementen, aber auch zugleich zur Härtung und Färbung. Für Fixation von Kernstrukturen ist sie jedoch weniger geeignet, als für die des Protoplasma.

Das Reagenz dringt wenig in die Tiefe (daher sind nur kleinere Objekte zu gebrauchen) und wirkt nicht ganz constant; die Bedingungen,

---

[1]) Nach längerem Aufenthalt daselbst ist die Färbung schwieriger. Es ist dann besser, eine 1procentige Silberlösung anzuwenden.

unter denen die Reduktion des Salzes erfolgt, sind auch nicht genau bekannt. Die Zeichnung in gelungenen Goldpräparaten ist aber eine sehr präcise, und das Verfahren ist darum von grossem Werth bei experimentellen Arbeiten, Cornea, Keratitis, Regeneration.[1])

Nach Drasch tritt die Nervenfärbung durch Goldchlorid besser an nicht ganz frischen Präparaten, sondern an solchen, die 12—24 Stunden kalt gelegen haben, ein.

Die Vorzüge der Goldmethode bestehen darin, dass

1) das Protoplasma der Zellen, besonders in der Cornea, intensiv dunkel gefärbt wird und sich so von der vollständig hellen Grundsubstanz sehr scharf absetzt;
2) die Axencylinder der Nervenfasern isolirt gefärbt werden.

Man verwendet verschiedene Lösungen des Chlorgold, von 1 : 100 bis 1 : 1000; die Cornea, resp. die sonstigen, zu färbenden Lamellen werden 10 Minuten bis eine Stunde in der Lösung belassen; sie nehmen darin eine strohgelbe Färbung an und kommen dann für längere Zeit, etwa 24 Stunden, in eine dünne Säure (Essigsäure, Ameisensäure, Weinsäure, Citronensäure). Dann ist die Reduction entweder geschehen, oder sie tritt erst weiterhin im Laufe von Tagen, während deren das Präparat in Alkohol, Glycerin etc. aufbewahrt wird, vollständig ein. Die Farbe wird dabei dunkelviolett. Das Präparat gewinnt schon durch das Goldsalz eine derbe Consistenz, um es in feinste Schnitte zu zerlegen, kann man es in Alkohol noch weiter härten.

Auch zur Färbung von Schnitten des Nervensystems, die nach der gewöhnlichen Behandlung mit Müller'scher Lösung etc. gewonnen werden, kann das Goldchlorid verwendet werden (Leber); die Schnitte werden etwa eine Stunde lang in eine halbprocentige Lösung, dann in destillirtes Wasser gebracht und zeigen nach ein bis zwei Tagen eine dunkelviolette Färbung derjenigen Partien, die normales Nervenmark enthalten. Die Methode ist demnach zum Nachweise von Degenerationen und Atrophien in peripheren Nerven und in der weissen Substanz der Centralorgane sehr brauchbar.

Um an Alkoholpräparaten die Nerven mit Gold zu färben, empfiehlt Frisch folgende Methode: Die Schnitte werden in Wasser ausgewaschen, kommen 24 Stunden lang in NaCl-Lösung von 6 pCt., dann 10 Minuten lang in 10 pCt. Ameisensäure; dann gut ausgewaschen in 1 pCt. Goldchloridnatriumlösung und zwar vor Licht geschützt, durch $^1/_2$—3 Stunden. Dann wieder ausgewaschen und in 10 pCt. Ameisensäure durch 24 Stunden.

Die Nickhaut kommt 10 Minuten in Citronensaft, wird schnell in destill. Wasser ausgewaschen und kommt darauf zur Reduction des Goldes entweder in Ameisensäure (1 : 3 Thle. Aq. dest.) an einen dunkeln Ort

[1]) Metallinstrumente dürfen nicht mit der Goldlösung in Berührung kommen.

oder bei Tageslicht in mit Essigsäure (2 Tropfen auf 20—30 Tropfen Aq. dest.) angesäuertes Wasser.[1])

Die besten Resultate giebt diejenige Methode, bei der Citronensaft und darauf schwache Essigsäure angewandt werden.

Eine sehr brauchbare Vergoldungsmethode ist von Golgi: Vorsäuern mit Arsensäure $^1/_2$ pCt., Goldchloridkalium $^1/_2$ pCt., dann Arsensäure 1 pCt. und Reduction darin im Sonnenlicht.[2])

d. Osmiumsäure (siehe Fixiren S. 31).

Dieses von Max Schultze zuerst verwendete Reagens hat eine sehr vielfache Anwendung gefunden: es dient 1) zur Fixation und Härtung von zarten Gewebselementen in annähernd natürlicher Gestalt, 2) zur Hervorhebung resp. Färbung der Fette, mit Einschluss des Nervenmarks.

Auch die Lösung der Osmiumsäure dringt nur in die oberflächlichen Schichten der Präparate ein.

Man benutzt eine Lösung von 0,1—1 pCt.; es ist zu bemerken, dass die Osmiumdämpfe auf die Conjunctiva und Nasenschleimhaut einen sehr heftigen Reiz ausüben.

Die Lösung der Osmiumsäure wird ebenso wie die des Goldchlorids und des salpetersauren Silbers in braunen Flaschen aufbewahrt.

Kleine Gewebsstücke, die in frischem Zustande für kurze Zeit, etwa eine Stunde, in dünne Osmiumlösungen eingelegt und dann in Glycerin aufbewahrt werden, geben oft sehr gute Isolationen der zelligen und faserigen Elemente, welche durch den Einfluss des Reagens neben der leicht braunen Färbung zugleich eine gewisse Resistenz erhalten haben. Diese Methode ist besonders für das Nervensystem, aber auch für andere Theile zu gebrauchen. Die rothen Blutkörperchen und Blutplättchen werden durch Osmium gebräunt und sind dann für die meisten Einwirkungen sehr widerstandsfähig, schon die sich bei Zimmertemperatur entwickelnden Osmiumdämpfe haben diese Wirkung; man bringt zu diesem Zwecke das im hängenden Tropfen auf der unteren Fläche des Objektträgers befindliche Präparat über den Hals einer mit Osmiumsäure gefüllten Flasche.

Wirkt die Osmiumsäure intensiver und längere Zeit hindurch ein, so werden kleine Gewebsstücke, Nerven etc. gehärtet.

Die verschiedenen Fette, ebenso das Nervenmark, werden durch die Osmiumsäure in wenigen Minuten tief schwarzbraun gefärbt durch Reduction des Metalls, wie allgemein angegeben wird; wahrscheinlich liegt hier eine besondere Verbindung vor. Diese frappante Färbung ist als die beste Farbenreaction der Fette für uns von grossem Werthe.

---

[1]) Ranvier. Journ. de Micrographie, T. X, 1886. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. V, 1888, S. 76.

[2]) S. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 4. 1887.

Auch an Schnitten, die von Alkohol-Präparaten entnommen worden sind, lässt sich die Reaction noch sehr gut anstellen; der Theil des Fettes, der durch den Alkohol nicht gelöst ist, wird binnen einer Viertelstunde dunkelbraun gefärbt.

Um demonstrative Dauerpräparate von Verfettungen in Niere, Leber, Herz, Granulationsgewebe, Tumoren etc. herzustellen, ist die Osmium-Methode dringend zu empfehlen. Die Präparate werden entweder frisch in die Lösung gebracht oder nach Härtung in Müller'scher Flüssigkeit auf dem Gefriermicrotom geschnitten. Man kann sie nach der Härtung mit Syrup und Gummi durchtränken (s. Durchtränkung). Die Schwärzung der Fette erfolgt nach ½stündigem Verweilen der Schnitte in 1procentiger Osmiumsäure. Die Präparate sind in Glycerin oder Farrant zu conserviren.

Flemming's Methode zum Nachweis der Kerntheilungs-Figuren (s. Fixiren).

18. Schwefelammonium.

(Siderosis.)

Schwefelammonium in wässeriger Lösung ist von Quincke[1]) als ein Reagens auf Eisen bei pathologischen, histologischen Untersuchungen in ausgedehntem Maasse verwendet worden; das in Form von Eisenalbuminat im Innern der Zellen enthaltene Eisen wird durch das Schwefelammonium in schwarzgrünen Körnern (Schwefeleisen) ausgefällt. Oft erkennt man die eisenhaltigen Körner schon vor der Wirkung des Reagens an ihrer gelbbraunen Farbe; indessen ist das nicht nothwendig, und andererseits geben nicht alle gelben Pigmentkörner die schwarzgrüne Färbung mit dem Reagens. Das früher zum microchemischen Nachweis des Eisens verwendete Reagens, Ferrocyankalium mit Salzsäure, ist weniger günstig, weil dasselbe die Eiweisskörper coagulirt und ausserdem leicht diffuse Färbungen giebt; das gebildete Berlinerblau ist in der eiweisshaltigen, sauren Flüssigkeit doch nicht ganz unlöslich. Die schwarzgrüne Färbung der eisenhaltigen Körner mit Schwefelammonium tritt an Schnitten von Alkohol-Präparaten in wenigen Minuten ein und bleibt wochenlang erhalten.

Die normalen, rothen Blutkörperchen geben die Reaction nicht, woraus zu entnehmen ist, dass das Eisen nicht aus jeder Verbindung durch das Schwefelammonium ausgefüllt wird; dagegen kommen nach Quincke in der Leber durch NH_4 S nachweisbare, eisenhaltige Körnchen vor, welche von zerfallenen, rothen Blutkörperchen abgeleitet werden müssen. In Folge von Transfusionen, sog. künstlicher Plethora, steigert sich der Zerfall der rothen Blutkörper sehr erheblich, demgemäss findet sich dann

[1]) Quincke, Ueber Siderosis, D. Arch. f. klin. Med., Bd. 25.

auch eine sehr erhebliche Vermehrung der physiologischen Siderosis; die Eisenkörnchen sind in der Leber im Innern von weissen Blutkörperchen in den Capillaren enthalten; in der Milz und im Knochenmark liegen sie innerhalb der Pulpazellen. Ebenso findet sich eine sehr reichliche Siderosis bei den analogen Zuständen des Menschen, d. h. in Fällen, in denen ein reichlicher Zerfall der rothen Blutkörperchen stattfindet, besonders bei der perniciösen Anämie; hier ist das Eisen in den Leberzellen und in den Lebercapillaren, auch im perivasculären Bindegewebe der Leber, in den Drüsenzellen des Pancreas, in den Epithelien einzelner, gewundener Harncanälchen, ausserdem auch in Milz und Knochenmark nachweisbar.

19. Die kernfärbenden, basischen Anilinfarbstoffe.

Von den kernfärbenden, basischen Anilinfarbstoffen sind hauptsächlich die folgenden in Gebrauch [1]):

Vesuvin (Bismarckbraun).

Fuchsin.

Gentiana- und Methylviolett,

Methylenblau. Ausserdem noch: Dahlia, Safranin, Methylgrün etc.

Diese verschiedenen Anilinfarbstoffe haben nahezu die gleichen Eigenschaften gegen die Gewebe, wir können sie daher gemeinschaftlich besprechen. Sie sind sämmtlich in Alkohol und in Wasser leicht löslich, ihre alkoholischen Lösungen werden nur selten angewendet; wir benutzen fast ausschliesslich die wässerigen. Am besten hält man sich je eine concentrirte, wässerige Lösung, welche überflüssigen Farbstoff enthält, vorräthig, unmittelbar vor dem Gebrauch filtrirt man von dieser Lösung die nothwendige Menge ab. Oft ist es bequem, statt dieser ganz undurchsichtigen, höchst intensiv gefärbten Lösung auch eine dünnere, weniger stark wirkende Lösung im Vorrath zu haben, etwa 1 : 100, welcher man der Haltbarkeit wegen etwa ein Zehntel des Volumens Alkohol zusetzen mag.

Kernfärbung. Kernlose Zellen.

Wird nun ein Schnitt in diese Lösung eingelegt, so ist derselbe nach kurzer Zeit, binnen wenigen Minuten, sehr stark gefärbt; spült man ihn in Wasser ab und untersucht ihn, so findet man eine fast vollständig diffuse, gleichmässige, in Folge dessen unbrauchbare Färbung. Erst nach

---

[1]) Die Farbstoffe sind in Berlin bei Hesterberg, Louisenstr. 39, ausserdem bei König, Portier des physiologischen Instituts, Dorotheenstr. 35, in Leipzig bei Dr. Gruebler, Dufourstr., vorräthig.

der Einwirkung von Alkohol treten die Vortheile der Färbung hervor; der in ein Schälchen mit Alkohol eingebrachte Schnitt giebt eine grosse Menge Farbstoff ab; nach einigen Minuten auf's Neue untersucht, findet man eine prachtvolle, distincte Färbung der Kerne etc., und zwar sind die Kerne der lymphoiden Zellen, sowie die der Bindegewebs- und Endothel-Zellen gewöhnlich viel dunkler tingirt, als die der Epithelzellen. Die übrigen Substanzen sind fast sämmtlich ungefärbt, mit einigen, wenigen Ausnahmen, die sogleich besprochen werden sollen. Der Vorgang ist demnach schnell beendet, der Schnitt kommt einige Minuten in die Farblösung, dann einige Minuten in Alkohol; von da wird er entweder in äther. Oel übertragen, wobei die ungefärbten Partien fast ganz aufgehellt werden, und event. in Canadabalsam conservirt; oder er wird wieder in destillirtes Wasser gebracht und in Glycerin untersucht. Es ist dabei zu bemerken, dass in den Balsampräparaten die Farben sich gut conserviren; dagegen hält sich die Kernfärbung in den Glycerinpräparaten nur bei der Bismarckbraun- resp. Vesuvinfärbung, während sie bei der Färbung mit Methylviolett etc. in Glycerin allmälig verloren geht (Weigert).

Aus diesem Grunde ist für die meisten Zwecke die Färbung mit Bismarckbraun die empfehlenswertheste, besonders auch für die Färbung frischer Schnitte; diese geben in Lösungen von Bismarckbraun keine Niederschläge, dagegen oft sehr störende, körnige Fällungen in der Lösung des Methylvioletts.

Durch die distincte, isolirte Kernfärbung, welche ausser durch die genannten Anilinfarbstoffe auch durch Haematoxylin, Picrocarmin, Borax-Carmin, Lithion-Carmin etc. erzeugt werden kann, ist Weigert zu der wichtigen Entdeckung geführt worden, dass bei einer grossen Zahl von pathologischen Processen die Zellkerne entweder sämmtlich, oder wenigstens in bestimmten Kategorien von Zellen verloren gehen. Zuerst wurde die Kernlosigkeit der Zellen in den tiefen Zellenschichten der Epidermis bei dem Pockenprocess gefunden, dann bei der Diphtherie, ferner in verschiedenen Organen in der Umgebung von Micrococcencolonien, in den gewundenen Harncanälchen bei der Chromvergiftung, in den Niereninfarcten, bei dem Verkäsungsprocess etc. Es stellte sich bald heraus, dass die Kernlosigkeit an Zellen auftritt, welche necrotisirt sind und noch nach dem Absterben eine gewisse Zeit lang einem, wenn auch verringerten Säftestrom ausgesetzt bleiben; in vielen Fällen nimmt das Protoplasma der Zellen gleichzeitig eine hellglänzende, homogene Beschaffenheit an, und dies sind dann die Fälle, für welche Cohnheim den Ausdruck „Coagulationsnecrose" eingeführt hat. Dieser Ausdruck ist später mehrfach missbräuchlich angewendet worden; man sollte ihn auf diejenigen Fälle einschränken, in denen neben der Necrose auch die Coagulation

nachgewiesen oder wenigstens wahrscheinlich gemacht ist; jedenfalls darf nicht jede Zelle, an der ein bestimmtes Kernfärbungsverfahren nicht recht anschlägt, als der „Coagulationsnecrose" verfallen betrachtet werden. Für die Anilinfärbungen ist zu bemerken, dass die Kerne von ganz normalen Epithelzellen, wenn die Färbung in saurer Lösung geschieht, oder wenn zur Entfärbung ausser dem Alkohol noch verdünnte Essigsäure verwendet wird, unter Umständen vollständig farblos erscheinen können. Im Uebrigen ist es durchaus nicht sichergestellt, dass jede Zelle, deren Kern nicht nachzuweisen ist, deshalb schon als necrotisch anzusehen ist; jedenfalls thut man daher gut, in solchen zweifelhaften Fällen von Zellen ohne färbbaren Kern nicht sofort von Coagulationsnecrose zu sprechen.

Ehe der Kern vollständig schwindet, findet man oft an seiner Stelle kleine, stark gefärbte Körnchen, die man wohl als Zerfallsprodukte des Kerns, speciell dessen Chromatins ansehen darf, die aber von Ungeübten oft fälschlich für Micrococcen gehalten werden; sie unterscheiden sich von diesen sofort durch ihre höchst variable Grösse.

Ausser dem Kern färben sich auf die angegebene Methode:

1. Die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels.
2. Die schleimigen Substanzen, namentlich auch der Schleim in den Drüsen.
3. Die meisten Micrococcen- und Bacillen-Formen; von ihnen wird sogleich des Weiteren gehandelt werden.
4. Gewisse Protoplasma-Körnungen, das Protoplasma der sogenannten Mastzellen.

Mastzellen.

Die von Ehrlich näher studirten „Mastzellen" sind ungefähr kugelige, zuweilen auch platte und spindelförmige Gebilde von etwa der doppelten Grösse der Lymphoidzellen; sie bestehen aus einem ziemlich grobkörnigen Protoplasma, dessen Körner mit den basischen Anilinfarbstoffen bei Anwendung der oben angegebenen Methode intensiv gefärbt werden. Bei Anwendung der violetten Farbstoffe nehmen die Körner eine röthliche Färbung an; stets aber bleibt der Kern ungefärbt und tritt als heller Fleck in der Mitte der stark gefärbten Protoplasmakörner hervor. Sie kommen in grosser Verbreitung im Bindegewebe vor; besonders reichlich in Schleimhäuten, im submucösen Gewebe, aber auch im intermuskularen Gewebe, in serösen Häuten etc., meist in der Nähe der Gefässe, fast stets aber vereinzelt. Ihre physiologische und pathologische Bedeutung ist noch sehr wenig bekannt, mit der Mästung stehen sie nicht in nachweisbarer Beziehung. In grosser Menge finden sie sich bei langsam entstehenden Granulations- resp. Bindegewebs-Wucherungen, wie bei der Elephantiasis, in der Umgebung von Tumoren. Ausserdem sind sie

im leukämischen Blut gefunden worden, sie fehlen im normalen Blute des Menschen.

Die Mastzellenkörner werden von Anfängern sehr leicht mit Micrococcencolonien verwechselt; auch in der Literatur finden sich fälschlich sogenannte Micrococcen-Entdeckungen von solchen Orten angegeben, an denen es sich lediglich um Mastzellenkörnung handelte.

Amyloidfärbung durch die violetten Anilinfarben.

Eine interessante Reaction zeigen die violetten, basischen Anilinfarbstoffe, Methylviolett und Gentianaviolett (die früher zuweilen angewendete Leonhardi'sche Tinte enthält wohl einen dieser Farbstoffe), gegen die amyloiden Substanzen, wie durch Heschl, Juergens und Cornil ungefähr gleichzeitig gefunden wurde; sie färben dieselben intensiv roth, während die Kerne etc. blau gefärbt werden. Die rothe Farbe des Amyloids erhält sich in verdünnten Säuren, wird dagegen in Alkohol sofort weggenommen (während die ebenfalls leicht röthliche Färbung der Mastzellen in Alkohol erhalten bleibt). Wir können demnach die so gefärbten Präparate nicht auf die gewöhnliche Weise mit Alkohol entfärben, sondern benutzen dazu eine verdünnte Säure, etwa Essigsäure 1 : 100; wir färben von vornherein nicht zu stark, benutzen also eine verdünntere Farbstofflösung, etwa 1 : 1000, welche schon in wenigen Minuten eine ausreichende Färbung giebt; untersucht und conservirt werden die Schnitte in Glycerin (wobei die Kernfärbung allerdings nach einiger Zeit verloren geht).

Die Farbendifferenz zwischen den rothen, amyloiden und den übrigen, blauen Partien ist sehr in die Augen fallend; dabei hat man an gut hergestellten Präparaten noch eine distincte, blaue Kernfärbung. In Folge dessen hat die Anwendung dieser Methode grosse Vortheile gegen die früher allein bekannte Amyloidfärbung mit Jod resp. Jod und Schwefelsäure; Eberth ist durch planmässige Benutzung dieser Methode zu dem Resultat gekommen, dass die zelligen Elemente, z. B. der Leber, Nieren, Milz, ebenso die glatten Muskelfasern der Gefässe, niemals der amyloiden Degeneration verfallen, sondern stets nur die Zwischensubstanz und die homogenen Membranen. Für die Entscheidung derartiger Fragen hat die Anilinmethode entschiedene Vorzüge; dagegen ist nach der Richtung hin Vorsicht geboten, dass nicht jede Rothfärbung mit Methylviolett nothwendig richtige, amyloide Degeneration anzeigt; auch andere, der amyloiden Substanz vielleicht nahestehende, hyaline Bildungen, z. B. gewisse Harncylinder, zeigen die Reaction, ohne deshalb als amyloid gelten zu dürfen. Die zwei Arten des Amyloids, welche oben an der Hand der Jod-Schwefelsäurereaction unterschieden wurden, verhalten sich gegen die Anilinfarben gleichmässig.

Curschmann hat neuerdings das Methylgrün zur Amyloidfärbung

empfohlen; die amyloiden Partien werden violett, die normale Substanz, besonders die Kerne grün. Die Farbendifferenz ist allerdings höchst frappant; indessen beruht die violette Amyloidfärbung nur auf zufälliger Beimischung von Methylviolett zu dem käuflichen, unreinen Methylgrün. Im Allgemeinen ist die Verwendung verunreinigter Fabrikate für unsere Zwecke nicht empfehlenswerth; am besten halten wir uns an chemisch genau definirte Körper in reinstem Zustande.

In Jodgrün, 0,5 auf 150 Aq. destill., welchem Stilling[1]) wegen der Sicherheit der Reaction den Vorzug giebt, färben sich nach 24 Stunden die amyloiden Massen rothviolett, das übrige Gewebe grün, während die hyalinen Klumpen in den Follikeln der Milz ungefärbt bleiben.

Die Flemming'sche Methode zur Färbung der Kerntheilungsfiguren.

Zur Färbung der Kerntheilungsfiguren hat Flemming[2]) eine vorzügliche Methode angegeben, die wir im folgenden mittheilen. Die ganz frischen Gewebsstücke (am besten nicht über 0,5 cm. dick) kommen in ein Gemisch von:

Chromsäure 1 pCt. Lös. . . . 15 Vol.
Osmiumsäure 2 pCt. Lös. . . 4 Vol.
Eisessig . . . . . 1 Vol.

einen bis zwei Tage lang, werden dann in fliessendem Wasser wenigstens eine Stunde lang gut ausgewaschen, dann in Alkohol nachgehärtet. Die Schnitte werden mit Gentianaviolett oder Safranin (event. successive mit beiden Farbstoffen) in wässeriger Lösung 10 Minuten bis einige Stunden gefärbt, in Wasser abgespült, in salzsaurem Alkohol (0,5 pCt Salzsäure) kurze Zeit entfärbt, dann in reinen Alkohol und Nelkenöl resp. Canadabalsam gebracht.

Die ruhenden Kerne werden durch diese Methode nur ganz blass gefärbt, dagegen sehr intensiv die chromatischen Kerntheilungsfiguren sowie die Nucleolen. Die in Theilung begriffenen Kerne drängen sich, nach Flemming's Ausdruck, bei dieser Methode förmlich dem Auge auf.

Uebrigens gelingt es auch an ganz einfach in Alkohol gehärteten Präparaten, die Kerntheilungsfiguren gut zur Anschauung zu bringen, nämlich durch Anwendung der Gram'schen Methode. Während die ruhenden Kerne entfärbt werden, treten die Mitosen intensiv gefärbt hervor.

Viele Untersucher bevorzugen für diese Zwecke Härtung in Chromsäure (1 pCt.) durch mehrere Wochen oder in Picrinsäure, weil durch die Osmiumsäure die Präparate etwas nachdunkeln. Rabl bedient sich darum eines Gemisches von:

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 103. 1886.

[2]) Flemming, Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. 1884. p. 349.

⅓ procentiger Chromsäure 200 gr.
concentrirter Ameisensäure 4-5 Tropfen.

Das Gemisch ist vor dem Gebrauch frisch zu bereiten. Die Objekte kommen in kleinen Stücken hinein. Nach 12—24 Stunden werden sie in Wasser ausgewaschen, in 60—70 procentigen Alkohol, nach 24—36 Stunden langsam in Alkohol absol. übertragen. Demarbaix gebraucht zur Fixation

Chromsäure (1 procentig) 14 Theile.
Wasser . . . . . 18 „
Eisessig . . . . . 1 „

Die Objekte bleiben 24 Stunden in dieser Mischung und werden ebensolange in Wasser ausgewaschen.

Zur Färbung dient dann entweder Hämatoxylin (s. Hämatoxylin S. 81) oder die Anilinfarben. Baumgarten[1]) empfiehlt mehrwöchentliche Härtung in verdünnter Chromsäure, Färbung in concentrirter, alkoholischer Fuchsinlösung, 5—10 Minuten lang, Abspülen in Alkohol, Nachfärben in conc. wässriger Methylenblaulösung. Dabei bleibt der rothe Farbstoff in den Kernen, während die Grundsubstanz eine leichte Methylenblaufärbung zeigt. Baumgarten ist es gelungen, bei experimentell erzeugter Tuberkulose durch diese Methode zugleich die Tuberkelbacillen und die Kerntheilungsfiguren zu färben; u. zw. tingirt er zuerst die Tuberkelbacillen mit Anilinwasser-Gentianaviolett (oder -Methylviolett), dann vorsichtige Entfärbung mit Säure, dann das beschriebene Fuchsin-Methylenblau-Verfahren. Die Methode ist etwas umständlich, die Resultate derselben sind indessen vorzüglich und dürften durch ein bequemeres Verfahren wohl kaum zu erreichen sein.

Für Kernfiguren empfiehlt Babes Safraninlösung in Anilinöl.

Zu 100 Theilen Wasser kommt Safraninpulver im Ueberschuss und 2 Theile Anilinöl. Das Gemisch wird auf 60—80° erwärmt und durch ein feuchtes Filter filtrirt. Die Lösung, welche 2 Monate sich hält, färbt Schnitte fast momentan.

Bizzozero[2]) härtet die Präparate in absolutem Alkohol. Die Schnitte werden in folgender Weise behandelt: Alkohol absol.

Ehrlich'sche Flüssigkeit (Gentianaviolett 1, Alkohol 15, Anilinöl 3, Wasser 80) . . . . . 5—10 Minuten
Abwaschen in Alkohol absol. . . . . 5 Secunden
Jodlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) . . . 2 Minuten
Alkohol absol. . . . . 20 Secunden
wässerige Lösung von Chromsäure 1 : 1000 . . . . 30 „
Alkohol absol. . . . . 15 „
Chromsäure wie oben. . . . . 30 „
Alkohol absol. . . . . 30 „

nochmaliges Auswaschen in erneuertem Nelkenöl, Einschluss in Damar.

[1]) Baumgarten, Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie, 1. Bd., 1884, S. 415.
[2]) Daselbst, 3. Bd., 1886.

Nachweis und Färbung der Schizomyceten in den Geweben.

Die Färbung der Schizomyceten hat einen wesentlichen Antheil an den wichtigen Entdeckungen gehabt, die in den letzten Jahren auf dem Gebiete der Infections-Krankheiten gemacht worden sind; wir haben demnach alle Ursache, dieselbe genauer zu besprechen.

a. Nachweis der Schizomyceten im ungefärbten Zustande.

Zu diesem Zweck benutzen wir gewöhnlich eine Eigenschaft derselben: die Resistenz gegen Säuren und Alkalien. Ein Schnitt, der von einem frischen oder in Alkohol gehärteten Präparat[1]) herrührt, wird durch starke Essigsäure oder durch (verdünnte, etwa 2procentige) Kali- resp. Natronlösung fast vollständig durchsichtig. Unter den wenigen, bei dieser Behandlung resistirenden Elementen heben sich die Schizomyceten sofort hervor:

1) Durch charakteristische Form der einzelnen Organismen.

Dies trifft vor Allem für die Bacillenformen zu; hier liegt höchstens die Möglichkeit vor, dass kleine Crystalle Anlass zu Verwechslungen geben.

In der That kann man z. B. die Bacillen des Ileotyphus und der Tuberkulose sehr gut auf diese Weise in den Organen demonstriren; man verwendet dabei am besten Präparate, die nicht zu lange Zeit in Alkohol lagen, da späterhin die Schnitte gewöhnlich nicht mehr vollständig durchsichtig werden; indessen gelingt es fast immer, noch eine ausreichende Aufhellung der Schnitte von alten Spirituspräparaten herbeizuführen durch eine kurzdauernde Erwärmung des mit Kalilauge oder Essigsäure eingedeckten Präparats bis zur beginnenden Blasenbildung.

2) Durch charakteristische Zusammenlagerung der einzelnen Organismen, durch ihre Gruppenbildung; und zwar handelt es sich hierbei entweder um Ketten (Diplococcen, Streptococcen, Streptobacterien etc.) oder um sogen. Colonienbildung (Gliacoccus etc.). In diesen Fällen wird wohl nur höchst selten die Möglichkeit einer Verwechselung mit anorganischen Niederschlägen vorliegen; von feinsten Fetttropfen unterscheiden sie sich sofort dadurch, dass sie dem Entfettungsverfahren mit Aether und Chloroform widerstehen.

Erleichtert wird die Erkenntniss der Micrococcenketten und Haufen

---

[1]) Härtung in Chromsäure, Müller'scher Lösung etc. ist für die Untersuchung auf Schizomyceten nicht geeignet, da durch die Chromwirkung in den Geweben reichliche dunkle, sehr schwer aufzuhellende Körnungen entstehen.

durch den eigenthümlichen Glanz der einzelnen Körnchen, eventuell durch die bräunliche Färbung derselben, die übrigens nur bei bestimmten Arten und stets nur dann auftritt, wenn man viele über einander gelagerte Körnchen vor sich hat, und durch die annähernd gleichmässige Beschaffenheit, sowie die bei starker Vergrösserung sichtbare scharfrandige Begrenzung der einzelnen Organismen. Die volle Sicherheit, dass es sich wirklich um Organismen handelt, erlangt man dann, wenn es gelingt, den Beweis des Wachsthums zu erbringen. Dies ist dann möglich, wenn die Organismen im Innern von Gefässen zur Entwickelung kommen, indem sie bei ihrem Wachsthum die Gefässlumina in ungleichmässiger Weise ausdehnen; da ihr Wachsthum an den verschiedenen Punkten mehr oder weniger rasch zu Stande kommt, entstehen an den Gefässen varicöse Auftreibungen. Dies findet sich sehr häufig in Fällen von metastasirender Pyämie, Endocarditis ulcerosa etc. an den Blutgefässen, Capillaren, kleinen Venen und an den Lymphgefässen der Lunge bei der acuten, croupösen Pneumonie. Schon früher waren solche Formen von „capillärer Embolie", von ungleichmässiger Erfüllung der Capillaren mit körnigem Material gesehen worden, man wusste auch bereits, dass diese Embolien zu Entzündungsherden führen; indessen bezeichnete man dieses körnige Material als Detritus, bis dann v. Recklinghausen, sehr bald nachher auch Klebs, Waldeyer u. A., gestützt wesentlich auf die varicöse Form der Injection, zu der wichtigen Erkenntniss gelangten, dass die „Detrituskörner" lebende, parasitäre Organismen, Micrococcen darstellen. Denn nur eine Substanz, der eine eigene Wachsthumsfähigkeit zukommt, kann eine derartige, ungleichmässige, knotige Form der Gefässinjection bedingen.

Nachdem dieser Nachweis einmal gesichert ist, brauchen wir natürlich nicht mehr in jedem einzelnen Falle die Wachsthumserscheinungen nachzuweisen, um die Diagnose auf „Micrococcencolonie" zu stellen; wenn wir in einem Schnitt, der von einem frischen oder in Alkohol gehärteten Organ herrührt, Haufen oder Ketten kleiner Körnchen finden, die unter sich von annähernd gleicher Grösse sind, die sowohl der Behandlung mit Alkohol und Aether, als auch der energischen Einwirkung von concentrirter Essigsäure und der Alkalien auch beim Erwärmen widerstehen, so sind wir berechtigt, die Körner als Organismen anzusprechen.

In allen wichtigen, irgendwie zweifelhaften Fällen werden wir natürlich nicht verfehlen, auch die Färbungs-Reaction in der gleich zu beschreibenden Weise vorzunehmen; auch für das Auffinden der Schizomyceten in Schnitten sind die Färbungen natürlich von grossem Vortheil.

Die Methoden der Züchtung der Schizomyceten besprechen wir hier nicht; wir verweisen auf die klassische Darstellung von Koch, in den

Mittheilungen des kaiserlichen Gesundheitsamts 1881, auf Hueppe, die Methoden der Bacterienforschung, auf den Grundriss der Bacterienkunde von Dr. Carl Fraenkel, 1887, auf das Lehrbuch der pathologischen Mykologie von Baumgarten und dessen Jahresbericht der pathologischen Mykologie und auf Flügge's Buch „die Microorganismen", 1886.[1])

b. Färbung der Spaltpilze.

Die Schizomyceten verhalten sich im Allgemeinen zu den Farbstoffen sehr ähnlich, wie die Kernsubstanz, von der sie sich doch sonst durch ihre Resistenz gegen Alkalien, in denen die Kerne sofort gelöst werden, sehr unterscheiden. Die Methoden der Kernfärbung sind demnach auch für die Färbung der meisten Schizomyceten anzuwenden; und da wir es hier mit sehr kleinen Körperchen zu thun haben, so werden wir danach streben, die möglichst intensive Färbung derselben zu erreichen; dazu sind nun die Färbungen mit Haematoxylin und den kernfärbenden Carminfarben weniger geeignet, als die basischen Anilinfarbstoffe (Weigert). Wir benutzen demnach dünne, wässerige Lösungen derselben (ein grösserer Zusatz von Alkohol als etwa 10 pCt. beeinträchtigt das Färbungsvermögen der Lösung); die Intensität der Färbung können wir dann nach Koch noch weiterhin steigern, theils durch verschiedene Stoffe, theils dadurch, dass wir die Färbung bei höherer Temperatur, bei etwa 50° C. im Wärmeschrank vornehmen[2]). Die Färbung dauert einige Minuten bis eine halbe Stunde oder länger; das nachherige Entfärben in reinem Alkohol darf nicht zu lange fortgesetzt werden, da zuweilen auch die Färbung der Schizomyceten durch den Alkohol allmälig blässer wird; die Untersuchung geschieht dann stets in ätherischem Oel resp. Canadabalsam und bei voller Abbe'scher Beleuchtung, mit offenem Condensor. Welchen der oben aufgeführten Farbstoffe man benutzt, ist meist von geringem Belang; die mit Vesuvin oder Bismarckbraun gefärbten Präparate können photographirt werden, dagegen giebt Gentianaviolett oder Fuchsin gewöhnlich die kräftigste blaue resp. rothe Färbung.

Verwechseln könnte man die gefärbten Micrococcen — die Bacillen

---

[1]) Vergl. neben den oben genannten Werken auch H. Kühne, Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bacterien im thierischen Gewebe. Wiesbaden. 1888.

[2]) Da die Farblösungen nicht sehr haltbar sind, so thut man gut, sie öfter alle 2—3 Wochen zu erneuern. Man bereitet sich am besten eine concentrirte, alkoholische Lösung, welche überschüssigen Farbstoff enthält (Stammflüssigkeit). Nach einigen Tagen wird filtrirt. Man giebt von dieser Lösung so viel zu filtrirtem destill. Wasser, dass eine circa 1 cm. hohe Schichte dieser verdünnten Lösung noch eben durchsichtig ist. Für manche Fälle ist es gerathen, nur die frisch hergestellte Farblösung zu gebrauchen.

sind wohl unverkennbar — entweder mit Kernrudimenten (s. oben), die sich aber durch ihre sehr verschiedene Grösse und durch die Lagerung an der Stelle des früheren Kerns meist sofort kennzeichnen, oder mit den Körnern der Mastzellen; die letzteren sind aber in Folge ihrer Gruppirung um den centralen, ungefärbt gebliebenen Kern ebenfalls leicht als solche zu erkennen. Wer allerdings nicht an Genauigkeit im Arbeiten und Beobachten gewöhnt ist, für den liegen noch eine Reihe von Schwierigkeiten in der Erkennung dieser Dinge vor. Bleiben die Schnitte statt in Alkohol tagelang in unreinem Wasser liegen, so sammeln sich auf beiden Oberflächen und an den Rändern dann reichliche Schizomyceten an, die, wenn der Schnitt nachträglich gefärbt wird, zu Verlegenheiten in der Deutung Veranlassung geben.

Färben sich nun sämmtliche parasitäre Microorganismen auf diese Weise? Nein, das ist nicht der Fall, ebensowenig wie es eine Universalmethode für histologische Untersuchungen überhaupt giebt, ebensowenig können wir erwarten, eine und dieselbe Methode zum Nachweis der verschiedenen Microorganismen kennen zu lernen.

Gefärbt werden auf die beschriebene Weise zunächst die Micrococcen und zwar, soweit bis jetzt bekannt, die sämmtlichen Micrococcenarten. Es ist hier nur die Einschränkung zu machen, dass die Micrococcen meist nach dem Absterben die Fähigkeit verlieren, den Farbstoff aufzunehmen resp. festzuhalten; man erhält nicht selten im Innern von Organen neben intensiv gefärbten Micrococcen- und Bacillenhaufen auch viel blasser gefärbte, selbst ganz farblose Körnerhaufen, die man mit grösster Wahrscheinlichkeit als abgestorbene Micrococcen ansprechen darf. Auch in Micrococcenketten kommen Unterschiede in der Intensität der Färbung an den einzelnen Gliedern der Kette zur Beobachtung, die wohl ebenso aufzufassen sind.

Immerhin ist es nicht unmöglich, dass an den verschiedenen Micrococcenspecies bei weiterem Studium auch Differenzen der Färbbarkeit sich ergeben; bis jetzt ist davon indessen noch wenig bekannt. Die Micrococcen der malignen Endocarditis, der Pyämie, des Erysipels, der Gonorrhoe etc. verhalten sich der von uns angewendeten Methode gegenüber nahezu gleichmässig.

Die Pneumococcen[1]) sind bekanntlich durch eine eigenthümliche Kapsel charakterisirt; dieselbe ist mit Gentianaviolett und Fuchsin nur schwach färbbar, während der Coccus selbst intensiv dunkel gefärbt wird. Mit Bismarckbraun und Methylenblau färbt sich Kapsel und Coccus nahezu oder ganz gleichmässig.

---

[1]) Unter „Pneumococcen“ wird hier lediglich die von Friedländer und Frobenius (Fortschritte d. Med., 1883, S. 715) genau characterisirte Species der kapseltragenden Bacterien verstanden, nicht etwa jede beliebige in Pneumonien vorzufindende Micrococcenart.

Eine besondere Stellung nehmen die Spirillen des Recurrens ein. Den meisten Untersuchern ist es überhaupt nicht gelungen, dieselben im Innern der Organe in situ nachzuweisen. Bekanntlich sind die Spirillen anders constituirt wie die meisten übrigen Schizomyceten, sie werden durch Säuren und Alkalien, ja schon durch destillirtes Wasser schnell zerstört; sie nähern sich also viel mehr dem Verhalten des Protoplasma's als dem der Kernsubstanz. Demgemäss sind sie auch durch die gewöhnliche Methode der Kernfärbung meist nicht zu tingiren. Nur R. Koch hat sie durch Anwendung brauner Anilinfarbstoffe auch im Innern der Organe tingirt und photographisch abgebildet; er erklärt selbst den Nachweis der Spirillen im gehärteten Organ für eine schwierige Aufgabe.

Die Bacillen verhalten sich verschieden. Die gewöhnlich bei der Fäulniss der Leiche auftretenden Formen, sowie die Bacillen des Milzbrandes werden intensiv gefärbt. Die Bacillen des Typhus färben sich etwas weniger stark; indessen tritt auch dieser kleine Unterschied, wenn man die Färbung in der Wärme vornimmt, vollständig zurück. Dagegen findet man im Innern der Typhusbacillen oft kleine, ungefärbte Stellen, scheinbare Lücken, theils kreisrund, theils elliptisch, welche etwa die Hälfte der Breite des Stäbchens und darüber einnehmen. Möglicherweise sind dies die Sporen der Bacillen, möglicherweise auch sonstige „Vacuolen“; nach Gaffky kommt an den bei Körpertemperatur gezüchteten Typhusbacillen eine andere Art von Sporenbildung, nämlich endständige Sporen von der Breite des Bacillus, zu Stande.

Die Leprabacillen färben sich mit Gentianaviolett, Methylviolett, Fuchsin und Gram, dagegen nicht in Bismarckbraun; auch in ihnen finden sich ähnliche, ungefärbte Stellen, wie in den Bacillen des Typhus. Sehr ähnlich den Leprabacillen verhalten sich bezüglich der Färbbarkeit die Bacillen der Tuberkulose.

Die verschiedene Färbbarkeit der Organismen hat man sich aus einer ungleichen Affinität derselben zu den Farbstoffen, aus einem verschiedenen Festhalten dieser seitens jener erklärt. Die Abneigung der Organismen gegen gewisse Farben hat man dadurch zu überwinden versucht, dass man die Farblösung länger und bei höherer Temperatur einwirken liess. Hier wird aber leicht die stärkere Färbung der Spaltpilze illusorisch durch die stärkere Färbung des Gewebes. [1])

Färbung der Sporen.

Bekanntlich nehmen die Sporen bei den verschiedenen erwähnten Färbungsmethoden der Regel nach keine Färbung an; sie characterisiren

[1]) Kühne ist der Meinung, die schwere Färbbarkeit mancher Spaltpilze im Gewebe sei nicht bewiesen, und die Hauptschuld für die ungenügenden Resultate, welche die kurze Färbung giebt, sei vielmehr dem unpassenden Differenzirungsverfahren zuzuschreiben.

sich an dem gefärbten Präparat meist als ungefärbte, kugelige oder ellipsoide Körper von eigenthümlichem Glanz. (Es ist zu bemerken, dass der Glanz natürlich bei offener Abbe'scher Beleuchtung verloren geht, um ihn sichtbar zu machen, muss man eine enge Blendung anwenden.) Nur zuweilen ist ihr peripherischer Saum leicht gefärbt.

Um Sporen besonders kenntlich zu machen, ist eine intensivere Einwirkung nöthig. Wir erreichen diese, indem wir stärker erhitzen, länger und bei höherer Temperatur färben. Deckplättchen werden statt 3 mal 6—10 mal durch die Flamme gezogen oder $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde im Trockenschrank bei 180—200° belassen. Wir färben dann in heissem, gesättigtem Anilinwasserfuchsin oder in Ziehl'scher Lösung bei 80—90° 10—40 Minuten (Neisser). Die Spore hält den Farbstoff fester als der übrige Theil des Spaltpilzes; sie bleibt getärbt, während letzterer durch salzsauren Alkohol entfärbt wird. Färben wir nun mit einer Gegenfarbe nach, mit Blau (alkoholisches Methylenblau), so erhalten wir durch diese auch den Bacterienleib gefärbt, in der als leuchtend rothe Körner die Sporen mit aller Deutlichkeit hervortreten.

Ein bequemes Verfahren für Sporenfärbung theilt Hauser[1]) mit.

Auf 3 mal durch die Flamme gezogene Deckglaspräparate kommen soviel Tropfen einer mässig concentrirten, wässrigen Fuchsinlösung, dass das Deckglas ganz damit bedeckt ist. Darauf wird es 40—50 mal durch die Flamme geführt, wobei man stets so lange in letzterer verweilt, bis Dampfbildung erfolgt. Zur Entfärbung taucht man die Präparate für einige Secunden in 25 procentige Schwefelsäure, wäscht aus und färbt in schwacher, wässriger Methylenblaulösung nach. Das Verfahren beansprucht kürzere Zeit (15 Minuten). Die Sporenfärbung wird aber bei längerer Erwärmung schöner.

Die isolirte Färbbarkeit gewisser Inhaltsportionen des Bacterienleibs legt die Vermuthung nahe, dass Sporenbildung bei Bacterien und Coccen verbreiteter sind, als man bisher vermuthete. Die Akten über diese Angelegenheit sind jedoch noch nicht geschlossen. Vgl. hierüber Ernst[2]) und Babes.[3])

So gelang es Ernst, durch alkalische Löffler'sche Methylenblaulösung bei höherer Temperatur in den Xerosisbacillen tiefblau gefärbte Körner nachzuweisen, während die übrige Substanz der Bacillen in schwachen Fuchsin- oder Bismarkbraunlösungen roth resp. gelb gefärbt wurde. Dasselbe glückte bei verschiedenen, anderen Bacterien; aber auch mit Häma-

---

[1]) Hauser, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. V, S. 97. 1888.

[2]) Paul Ernst, Ueber den Xerosis-Bacillus. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 4, 1888. Ueber Keim- und Sporenbildung in Bacterien. Daselbst, Bd. V, 1889.

[3]) Babes, Ueber isolirt färbbare Antheile von Bacterien. Daselbst, Bd. V, 1889.

toxylin (Delafield) und Kernschwarz färbbare Körner wurden von ihm nachgewiesen (sporogene Körper). Diese färben sich mit Methylenblau und nachfolgende Tinktion mit Bismarckbraun schwarzblau (Mischfärbung), die fertigen, endogenen Sporen hellblau (Doppelfärbung).

Babes färbte morphologisch begrenzte Formbestandtheile verschiedener Organismen mit dem Löffler'schen Blau, welches möglichst concentrirt auf das mit angetrockneten Bacterien versehene Deckgläschen getropft, etwa $^1/_4$ Stunde bis zur beginnenden Austrocknung daselbst blieb und darauf abgewaschen wurde. Babes erzielte so eine scharfe Contrastfärbung schon durch Anwendung einer einzigen Farbe, Kügelchen in den Bacillen schwarzroth oder schwarzviolett und die Bacillen blau.

Die Färbung fördernde Mittel.

Durch verschiedene Stoffe wird die Aufnahme der Farben wesentlich unterstützt. (Alaun in Alauncarmin).

Anilinfarben versetzen wir für diesen Zweck mit verschiedenen Stoffen, durch welche die Farbenaufnahme erleichtert wird, weil sie die Membran der Organismen für Farbstoffe permeabler machen. Kali (Kalimethylenblaulösung von Koch und Löffler), ferner Lösungen des Anilins oder Anilinöls (Ehrlich's Lösung), der Carbolsäure (Ziehl'sche Lösung) begünstigen die Färbung. Die Erwärmung wirkt in gleicher Weise.

Haltbarkeit der Färbung.

In erster Linie stehen die Methylenblau-, Methylviolett- und Fuchsinpräparate, denen sich die Gram'schen anreihen. Doppelt gefärbte Gram'sche Präparate sind weniger dauerhaft. Mit Anilinöl ausgezogene Fuchsinpräparate sind gegen Doppelfärbungen gleichfalls empfindlich. Sorgfältiges Auswaschen der vorgefärbten Schnitte in vielem Wasser ist hier nothwendig.

Entfärben und Differenziren.

Um Spaltspitze und Gewebe von einander unterscheidbar zu machen, ist eine Entfernung der überschüssigen Farbstoffe nöthig. Wir können denselben so weit entfernen,

1. dass er nur noch die Organismen und Kerne färbt: Kern- und Bacterienfärbung; oder
2. dass lediglich die Organismen gefärbt bleiben: isolirte Bacterienfärbung; oder endlich
3. können wir den aus einem Theil ausgezogenen Farbstoff durch einen anderen ersetzen: Doppelfärbung.

In vielen Fällen genügt es, den überschüssigen Farbstoff durch längeres Waschen der Schnitte in Wasser zu entziehen, um eine Differenzi-

rung zu erhalten. Besser wird diese durch Ansäuern mit Essigsäure (3 bis 4 Tropfen auf 20 ccm. Wasser) erreicht. Der Farbstoff geht dann aus den Zellen und der Grundsubstanz, während er in den Kernen und Organismen bleibt.

Eingreifender entfärben Salze, Schwefel- und Salpetersäure und sind darum mit Vorsicht zu gebrauchen.

Stärker als Wasser wirkt der Alkohol und besonders der saure Alkohol. Zu den entfärbenden Mitteln gehört auch Jodkalium in wässeriger Lösung und das Jodjodkalium (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300), besonders für Präparate, welche mit Anilinwasser-Gentianaviolett behandelt sind (s. Gram'sche Methode S. 121). Sie beruht zum Theil auf der entfärbenden Wirkung der Jodkaliumlösung, zum Theil verdankt sie dem freien Jod die besondere Intensität der Färbung des einzelnen Spaltpilzes.

Entfärbung der Kerne wird durch verschiedene Salze erzielt. Durch Jodkalium, Palladiumchlorid (für Tuberkelbacillen-Färbung), Liquor ferri, Kalium bichrom., Argentum nitric., Eisenalaun, Kalium hypermanganic., Chlornatrium, kohlensaures und schwefelsaures Natron, Magnesiasalze, Alaun, kohlensaures Lithion in einprocentiger oder noch schwächerer Lösung [1]).

Als schonende Entfärbungsmittel empfiehlt Kühne nicht nur saure, sondern auch basische Anilinfarben. Die entfärbenden Eigenschaften des Alkohols bei der Entwässerung sucht derselbe durch Zusatz der gleichen Flüssigkeit zu demselben, in welcher die Schnitte gefärbt wurden, abzuschwächen, um so einen Theil des durch Alkohol ausgezogenen Farbstoffes dem Schnitte wieder zuzufügen.

Noch besser ist es, durch gefärbten Alkohol nur das oberflächlich dem Schnitte anhaftende Wasser zu entfernen, die vollkommene Entwässerung aber durch Anilinöl vorzunehmen.

Alkoholische Lösungen saurer Farbstoffe finden Anwendung bei Bacterien, welche die Farbe festhalten.[2]) Bei denjenigen, welche dagegen leicht entfärbt werden, wird besser eine Lösung des sauren resp. basischen Farbstoffes in Nelkenöl, Fluorescëin-Nelkenöl, Eosin-Nelkenöl oder Anilinöl angewandt.

Doppelfärbung.

Wollen wir durch Doppelfärbung die Spaltpilze und das Gewebe differenziren, so färben wir erst das Gewebe mit Carmin oder Picrocarmin

[1]) Die entfärbende Wirkung kommt also auch reducirenden Salzen zu und beruht darum nicht auf einer Oxydation. Gottstein, Fortschr. d. Med. 1885. S. 627.

[2]) Fluorescëin-Alkohol. 1,0 gr. gelbes Fluorescëin wird mit 50,0 ccm. absol. Alkohols verrieben, das Ganze in ein Fläschchen gegossen, in welchem sich später der unaufgelöste Theil absetzt. Die ausziehende Kraft des Fluorescëin-Alkohols ist gering.

vor oder lassen nach der Bacillenfärbung eine andere Färbung (Bismarckbraun, Safraninöl) [1]) folgen.

Die wichtigsten Farbstoffe für Bacterienfärbung.

Für die Zwecke der Bacterienfärbung ist es wichtig, die Eigenschaften der einzelnen Farben näher kennen zu lernen.

Gentianaviolett.

Färbt stark, widersteht mehr dem Alkohol und wird durch diesen nicht so rasch entfernt. Die Färbung ist recht haltbar. Eignet sich für schwieriger tingirbare Organismen.

Methylviolett.

Färbt weniger intensiv als Gentiana, überfärbt nicht leicht, ist weniger haltbar.

Methylenblau.

Färbt noch schwächer als das vorige, beansprucht längere Zeit für die Färbung, überfärbt fast nicht, ist mässig haltbar, färbt auch sehr schwer tingible Organismen und wird darum sehr häufig angewendet, so dass es fast als universelles Färbungsmittel bezeichnet werden kann (s. Methylenblau-Methode).

Fuchsin.

Leuchtende Farbe, ziemlich haltbar.

Bismarckbraun.

Färbt etwas langsam und mehr gleichmässig.

Kalimethylenblau, Anilinwasser-Gentianaviolett, Carbolfuchsin.

Eine Mischung des Farbstoffs mit Kali findet mit Erfolg vielfache Anwendung auf alle möglichen Bacterien. Die schwächere Kalimethylenblau-Lösung von Koch besteht aus:

Concentrirter, alkoholischer Lösung von Methylenblan	1 ccm.
Destillirtem Wasser	200 „
Kalilauge von 10 pCt.	0,2 „

Die starke oder Löffler'sche Lösung besteht aus:

Concentrirter, alkoholischer Lösung von Methylenblau	30 ccm.
Kalilauge 1 : 10 000 (0,01 pCt.)	100 „

Unter den Mischungen der Anilinfarben mit Anilin hat sich besonders die Ehrlich'sche Lösung bewährt.

5 ccm. Anilinöl werden mit 100 ccm. destillirtem Wasser geschüttelt und durch ein feuchtes Filter geschickt. Das Filtrat muss klar sein, ohne

[1]) Eosin zieht zu sehr die Bacterienfärbung aus. Auch Carmin und Picrocarmin sind nicht ganz indifferent.

Oeltropfen und beim Schütteln sich nicht wieder trüben. Die Haltbarkeit der Mischung wird auch durch Zusatz von Alkohol nicht wesentlich erhöht. Deshalb bereitet man sie am besten immer frisch.

Man giesst circa 2 ccm. Anilinöl in ein Reagenzglas, fügt destillirtes Wasser zu, schüttelt, filtrirt, giesst das Filtrat in ein Uhrschälchen und giebt von einer concentr. alkoholischen Lösung eines Anilinfarbstoffs, am besten Gentiana oder Fuchsin so viel zu, dass die Lösung noch durchsichtig ist.

Das mit dem Anilin verwandte Phenol oder die Carbolsäure findet sich in der Ziehl'schen Lösung gemischt mit Fuchsin.

Destillirtes Wasser .	100 gr.
Acid. carbol. crystall.	5 „
Alkohol	10 „
Fuchsin	1 „

oder

Gesättigte wässerige Carbolsäurelösung von 5 pCt. wird bis zur Sättigung mit einer concentrirten, alkoholischen Fuchsinlösung versetzt [1]).

Kühne's Carbolmethylenblau.

Methylenblau . .	1,5
Absol. Alkohol .	10,0

werden unter allmäligem Zusatz von 100,0 Theilen 5 procentiger Carbolsäure verrieben und gelöst. Bei nicht zu häufigem Gebrauch empfiehlt es sich, nur die Hälfte davon herzustellen, weil die Färbekraft der Lösung mit der Zeit abnehmen könnte.

Das Verfahren ist ein relativ universelles, da es die meisten und selbst schwer nachweisbaren Organismen färbt [2]),

1. Uebertragung der Schnitte in Carbol - Methylenblau $^1/_2$—2 Stunden.
2. Abspülen in Wasser.
3. Ausziehen in angesäuertem Wasser [3]).
4. Abspülen in einer schwachen, wässerigen Lösung von kohlensaurem Lithion [4]).
5. Uebertragung in reines Wasser.
6. Eintauchen in Alcohol absol. (mit etwas Methylenblau).
7. Methylenblau-Anilinöl, einige Minuten [5]).

---

[1]) Die Sättigung erkennt man daran, dass an der Oberfläche der Flüssigkeit ein metallisch glänzendes Häutchen erscheint.

[2]) Auch Tuberkelbacillen und die Organismen der Hühnercholera und des Typhus, des Rotzes, der Lepra- und die Mäusebacillen werden gefärbt, wenn auch von den beiden letztgenannten nicht alle.

[3]) 500,0 Wasser und 10 Tropfen Salzsäure.

[4]) 10,0 Wasser, 6—8 Tropfen einer concentrirten, wässrigen Lösung von kohlensaurem Lithion.

[5]) Eine Messerspitze Methylenblau wird ohne zu starken Druck mit

8. Abspülen in reinem Anilinöl.
9. Aetherisches Oel, Thymen, Tereben 2 Minuten.
10. Entölung in Xylol.
11. Balsam.

Statt mit angesäuertem Wasser kann auch mit einer wässerigen, sauren Lösung basischen Indulins (Chlorhydrinblau) die Entfärbung vorgenommen werden. In letzterem Fall scheint das Methylenblau sogar stärker in den Bacillen fixirt zu werden.

Weigert's Bacterienfärbung[1]).

Die in Alkohol gehärteten Schnitte werden in ein farbstoffgesättigtes Anilinwasser, Gentiana- oder Methylviolett (6 B), Krystallviolett etc. gebracht. Will man auf dem Objektträger färben, so lässt man den Farbstoff abfliessen und tropft Jodlösung darauf. Die Färbung darf dann nur kurze Zeit dauern. Die in der Schale gefärbten Schnitte werden in Kochsalzlösung abgespült, auf den Objektträger gebracht, abgetrocknet und mit Jod behandelt.

Nach Jodbehandlung wird wieder abgetrocknet und Anilinöl auf das Präparat getropft. Das Anilinöl wird 2 bis 3 mal erneuert. Der Schnitt ist dann durchsichtig. Entfernung des Anilinöls mit Xylol, dann Balsam. Für Vorfärbung enpfiehlt sich Carmin. Manche Microorganismen und Fadenpilze werden vollkommener als mit der Gram'schen Methode gefärbt. Auch Tuberkel- und Leprabacillen färben sich in wenigen Minuten.

Das Gram'sche Verfahren

zeichnet sich durch die isolirte Färbung der Organismen aus[2]).

Bei dieser Methode entfärbt sich alles Andere vollständig (nur zuweilen bleibt ein mattblauer Schimmer an den Kernen), die Schizomyceten dagegen werden höchst intensiv gefärbt, tief dunkelblau, so dass fast jedes einzelne Individuum derselben, welches in dem Schnitt vorhanden ist, dem Untersucher sofort auffallen muss.

Zur Färbung dient die Ehrlich'sche Lösung von Gentianaviolett in Anilinwasser[3]). (S. 119.)

Zuweilen jedoch, besonders an älteren Alkoholpräparaten, gelingt es nicht, sofort eine vollständige Entfärbung der Kerne und der Grundsubstanz zu erhalten. In diesen Fällen führt oft eine wenige Sekunden

10,0 gereinigtem Anilinöl verrieben. Bevor alle Farbe aufgelöst ist, wird das Ganze unfiltrirt in ein Fläschchen gegossen, in welchem nach einiger Zeit das Oel vollkommen klar wird. Einige Tropfen davon werden in einem Blockschälchen mit reinem Anilinöl bis zur gewünschten Concentration versetzt.

[1]) Fortschritte der Medizin. 1887.

[2]) Gram, Fortschritte der Medizin. 1884. S. 185.

[3]) Das Gram'sche Verfahren giebt übrigens auch mit Methylviolett, ja selbst mit Fuchsin Resultate. (Baumgarten.)

lange Behandlung der Schnitte mit schwach angesäuertem Alkohol (1 pCt. Salzsäure) zum Ziele; nur muss man sich hüten, dass nicht auch die Schizomyceten gleichzeitig mit entfärbt werden, und die Schnitte nach der Säureeinwirkung sofort in ganz reinem Alkohol gut auswaschen.

Durch nachträgliche Färbung mit Bismarckbraun kann man sehr schöne Doppelfärbungen herstellen, die Schizomyceten bleiben dunkelblau, die Kerne werden gelb bis braun. Noch schönere Bilder liefert die Vorfärbung der Schnitte mit Picrocarmin oder Picrolithioncarmin. Die doppelt gefärbten Gram'schen Präparate sind jedoch nicht so haltbar. Dadurch treten dann die Lagerungsverhältnisse der Schizomyceten in den Geweben deutlicher zu Tage, man erkennt, ob sie innerhalb oder ausserhalb der Zellen gelegen sind, etc.

Es ist übrigens zu bemerken, dass die Typhusbacillen bei dem Gram-schen Verfahren ebenso wie die Kerne entfärbt werden, sie unterscheiden sich hierdurch von den meisten anderen Bacillenformen. Auch die Cholerabacillen werden durch die Gram'sche Methode entfärbt.

Nach Gram dürfen die nach seiner Methode zu färbenden Schnitte nur aus dem Alkohol (nicht aus verdünntem Alkohol oder Wasser) in die Ehrlich'sche Farbflüssigkeit, Gentianaviolett in Anilinwasser[1]), übertragen werden. Ich habe jedoch gefunden, dass es ziemlich gleichgültig ist, ob die Schnitte aus Alkohol oder aus Wasser in die Farblösung kommen. Aus dieser werden die Präparate in Jodjodkaliumlösung[2]) übertragen, dann in Alkohol abgewaschen und entwässert, in Oel aufgehellt und in Xylolcanadabalsam conservirt.

Das Verfahren besteht demnach aus folgenden Akten:

1. Alkohol oder Wasser.
2. Färben in Anilinwasser-Gentianaviolett, 1—3 Minuten.
3. Abspülen in Wasser.
4. Jodjodkalium, $2^1/_2$—3 Minuten.
5. Wiederholtes Auswaschen in Alkohol von 90 pCt.
6. Absoluter Alkohol.
7. Aetherisches Oel.
8. Canadabalsam.

Will man die Schnitte mit einer zweiten Farbe behandeln, färbt man am besten mit Picrocarmin vor.

Der eigentlichen Gram'schen Färbung würde dann vorausgehen:

A. Färben in picrinsaurem Carmin, 30 Minuten,

B. Entfernung des überschüssigen Farbstoffs in Alkohol, 50 pCt., oder in salzsaurem Alkohol (30 ccm. Alkohol von 70 pCt., 1—2 Tropfen Salzsäure). Nun folgt Färben in Anilinwasser-Gentianaviolett etc.

---

[1]) Siehe Gentianaviolett.

[2]) Jod 1,0, Jodkalium 2,0, Wasser 300,0.

Kühne's Modification der Gram'schen Methode.[1])

Bei der gewöhnlichen Gram'schen Methode sind die Farbstoffniederschläge lästig und die Zeitdauer der Abspülung der Schnitte in Alkohol schwer zu bemessen. Kühne hat die Missstände durch ein modificirtes Verfahren beseitigt.

1. Färbung der Schnitte in einer Lösung von Violett- oder Victoriablau[2]), welche mit der Hälfte einer 1procentigen wässerigen Lösung von kohlensaurem Ammoniak versetzt wurde, 5 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Uebertragung in Jod-Jodkaliumlösung[3]), 2—3 Minuten.
4. Abspülen in Wasser.
5. Ausziehen des Farbstoffs in Fluorescëin-Alkohol.
6. Auswaschen des Fluorescëin-Alkohols in reinem Alkohol.
7. Aetherisches Oel. Bei Behandlung mit Anilinöl, ätherisches Oel und Xylol.
8. Balsam.

Eine andere Modification des Gram'schen Verfahrens ist folgende nach Kühne:

1. Die entwässerten, ungefärbten oder mit Carmin vorgefärbten Schnitte kommen in eine mit Salzsäure[4]) versetzte, concentrirte, wässerige Violettlösung, 10 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.
3. Jod-Jodkaliumlösung, 2—3 Minuten.
4. Abspülen in Wasser.
5. Absoluter Alkohol, einige Sekunden.
6. Reines Anilinöl zur Ausziehung, Differenzirung und Entwässerung.
7. Aetherisches Oel, Xylol.
8. Balsam.

Trockenpräparate.

Die Trockenmethode kann sowohl auf Schnitte wie auf Flüssigkeiten, welche Bacterien enthalten, angewendet werden. Für erstere ist sie nicht unumgänglich nothwendig; für letztere (Gewebssaft, Secrete, Exsudate,

---

[1]) Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien. Wiesbaden, 1888.

[2]) 1,0 gr. Victoriablau in 50,0 Alkohol von 50 pCt. gelöst.

[3]) Jod . . . . . 2,0.
Jodkalium . . . . 4,0.
Wasser . . . . . 100,0.
Zum jedesmaligen Gebrauch wird soviel zu einem Schälchen Wasser gesetzt, bis dieses eine Madeirafarbe angenommen hat.

[4]) 1 Tropfen auf 50,0.

Culturflüssigkeiten etc.) dagegen ist sie unentbehrlich. Insbesondere für jene Fälle, in denen die Organismen spärlich vorkommen, oder durch Gewebselemente verdeckt oder wegen ihrer Zartheit in Flüssigkeiten schwer zu unterscheiden sind, z. B. in Hämoglobinlösung.

Der Vorzug der Methode, seien es angetrocknete Schnitte oder angetrocknete Flüssigkeit, besteht in der Umgehung des Alkohols, womit eine weitere Entfärbung der Spaltpilze vermieden wird. Ausserdem wird der Schnitt durch Antrocknen glasig aufgestellt und dünner, wodurch einerseits die Organismen weniger verdeckt werden, andererseits die Untersuchung desselben überhaupt erleichtert wird.

Die gefärbten Schnitte werden in angesäuertem Wasser ausgezogen (bei Färbung mit Carbolmethylenblau einige Augenblicke in mit kohlensaurem Lithion schwach alkalisch gemachten Wasser abgeschwenkt) und dann in reines Wasser zur vollkommenen Ausspülung übertragen. Der Schnitt wird mit Deckgläschen aufgefangen, glatt ausgebreitet, das überflüssige Wasser vom Rande mit Fliesspapier aufgenommen, die Unterfläche des Deckgläschens abgetrocknet und das Deckplättchen auf Fliesspapier gelegt. Man fixirt dasselbe an einer Ecke und richtet auf dasselbe einen senkrechten Luftstrom aus dem Ballongebläse erst auf die Mitte, dann gegen die Ränder, bis er fest aufliegt. Sobald der Schnitt grösstentheils von Wasser befreit ist, wird er auf einer Glasplatte über einer Spiritusflamme 5—8 Minuten leicht erwärmt bei 38—40 ° C. Darauf übergiesst man ihn wiederholt mit ätherischem Oel und überträgt ihn in Xylol und dann in Canadabalsam.

Will man von Flüssigkeiten Trockenpräparate anfertigen, so bringt man mit der vorher ausgeglühten Nadel oder einem Glasstab auf das sorgfältig gereinigte Deckgläschen einen Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit und breitet ihn auf dem Deckglas etwas aus. Bei Flüssigkeiten, die viel morphotische Bestandtheile enthalten, muss die Flüssigkeitsschicht möglichst dünn sein. Man kann sie dadurch weiter verdünnen, dass man mit dem Ballongebläse sie vertheilt, oder dadurch, dass man den Flüssigkeitstropfen mit einem Deckgläschen bedeckt, und dieses über das andere Deckgläschen wegzieht; man erhält so zwei Deckglaspräparate auf einmal (Blut, Sputum, Eiter).

Etwas schonender ist folgendes Verfahren: Man berührt mit einem Deckgläschen die Kuppe eines Tropfens der zu untersuchenden Flüssigkeit (Blut) und fährt nun mit dem Rande eines zweiten, der zu dem ersten unter einem Winkel von 45° gehalten wird, über das erste. Die Flüssigkeit wird so in dünner Schicht ausgebreitet.

Darauf lässt man das Deckgläschen an der Luft trocknen. Wollte man nun jetzt färben, so würde bald die angetrocknete Flüssigkeit sich ablösen. Wir können aber durch Erwärmen die eiweisshaltige Flüssigkeit ohne wesentliche Beeinträchtigung der Formverhältnisse der einzelnen

Theile auf dem Deckplättchen durch Erhitzung fixiren. Das Präparat muss jedoch vollkommen lufttrocken sein, denn sonst wird das Eiweiss nicht homogenisirt, sondern coagulirt.

Wir erhitzen zu dem Zweck die Deckgläser 20 Minuten bis zu 120°, wir erreichen jedoch unseren Zweck auch dadurch, dass wir dreimal das Deckglas mässig schnell mit der angetrockneten Schicht nach oben durch die Flamme eines Bunsen'schen Brenners oder etwas länger durch eine Weingeistflamme ziehen.

Manche Organismen, z. B. Recurrens-Spirillen, vertragen Erwärmen schlecht. Diese werden, nachdem sie lufttrocken sind, durch eine Mischung von Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen (mehrere Stunden bis 1 Tag) fixirt.

Um die plasmatischen Flüssigkeiten vom Deckgläschen zu entfernen und dadurch klarere Bilder zu erhalten, behandelt Günther die Deckgläschen mit 1—5 procentiger Essigsäure. Nach sorgfältiger Entfernung dieser durch Abwaschen werden die Präparate gefärbt.

Da längere Zeit angetrocknete Präparate das Plasma schwer an Essigsäure abgeben, wird statt dieser 2-3 proc. wässerige Pepsinlösung angewendet.

Zäher Schleim wird mit der Platinnadel auf dem Deckgläschen hin- und hergeschoben, bis er sich etwas vertheilt hat. Auf zähe Klümpchen richtet man aus dem Ballongebläse einen senkrechten Luftstrom von oben, wodurch eine gleichmässige Ausbreitung erfolgt. Darauf breitet man wieder eine Schicht mit der Platinnadel aus und vertheilt den Rest durch Blasen in der oben angegebenen Weise, wodurch er antrocknet. Die lufttrockenen Präparate werden nun 2 bis 3 mal mit der beschickten Seite nach oben durch die Flamme gezogen. Darauf Färbung, Abspülen in Wasser, Differenzirung in angesäuertem Wasser (einige Sekunden oder längere Zeit), Abspülen in schwacher, wässeriger Lösung von kohlensaurem Lithion, Uebertragen in Wasser $^1/_4$ Minute. Man legt das Deckgläschen mit der nicht beschickten Seite auf Fliesspapier, fixirt es an einer Ecke durch eine Bleikugel und bläst die beschickte Seite durch Ballongebläse trocken. Nach leichtem Erwärmen des Deckgläschens über der Flamme wird es in Xylol aufgehellt und in Balsam eingelegt.

Ausstrichpräparate.

Zur Untersuchung von Gewebssaft drückt man das Deckplättchen sanft an die frische Schnittfläche des Organs oder umgekehrt und vertheilt den Gewebssaft gleichmässig mit der ausgeglühten Platinnadel oder mit einem Glasstab.

Färben der Deckglaspräparate.

Man bringt einen Tropfen der verdünnten, alkoholischen Farblösung auf das Deckplättchen, lässt etwa 2 oder mehrere Minuten die Farbflüssigkeit stehen und spült sie dann mit destillirtem Wasser ab.

Weitere Behandlung.

Das gefärbte Präparat kann sofort in Wasser untersucht werden. Will man das Präparat in ätherischen Oelen oder Balsam untersuchen, saugt man das Wasser mit Fliesspapier auf, lässt das Präparat trocknen, erwärmt leicht und untersucht es dann in ätherischem Oel oder Canadabalsam.

Die Deckglaspräparate vertragen alle möglichen Färbungen. Um rasch und intensiv zu färben, erhitzt man die Flüssigkeit und lässt die Deckgläschen auf derselben mit der beschickten Seite nach unten schwimmen. Es genügt eine Erwärmung bis Dämpfe aufsteigen.

Gram'sche Präparate werden in der Anilinwasser-Gentianaviolettlösung bis zum Kochen erwärmt, dann 7 Minuten in Jodjodkalium gebracht und dann mit Alkohol ausgewaschen, bis keine Farbstoffe mehr abgegeben werden. Für eine Grundfärbung wird Safranin, Bismarckbraun, Eosin oder Carmin gebraucht.

Die wichtigsten Spaltpilze.

Streptococcus des Erysipels.

Kleine kuglige Coccen, welche meist grössere Verbände (Ketten) bilden. Sie finden sich reichlich am Rande des Entzündungsbezirks in den Lymphspalten und Lymphgefässen.

Methylviolett und Gram färben dieselben leicht.

Streptococcus pyogenes.

Ist von dem gleichnamigen Organismus des Erysipels nicht zu unterscheiden und verhält sich ebenso wie dieser gegen Anilinfarben. Derselbe findet sich bei den verschiedensten Eiterungen im Gewebe und oft z. B. bei schwerem Puerperalfieber und Pyämie im Blut.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Die einzelnen Zellen dieses Organismus sind meist in unregelmässigen Haufen in traubenförmigen Ballen angeordnet, daher der Name. Er findet sich bei verschiedenen Eiterungen, im Knochen, den Gelenken, Furunkeln, auf den Herzklappen. Er ist wohl der häufigste Entzündungserreger. Mit Anilinfarben und mit Gram ist er leicht zu färben.

Staphylococcus pyogenes albus.

Unterscheidet sich von dem vorigen nur durch das Fehlen der gelben Farbe, welche der erstere in Culturen zeigt. Er ist seltener als der obengenannte, verhält sich bezüglich der Färbbarkeit aber ganz gleich.

Bacillen des grünen Eiters.

Nach Ernst[1]) tritt dieser Organismus in zwei durch ihre Culturen characterisirten Varietäten auf. Der Bacillus (B. pyocyaneus), der gelegentlich in die Wundsecrete gelangt und dem Nährboden (Eiter etc.) die grünliche Farbe giebt, ist ein kleines, schlankes, an den Ecken abgerundetes Stäbchen, welches kleinere Kettenverbände bildet.

Der Farbstoff ist nicht an die einzelnen Zellen gebunden, welche als Stoffwechselprodukt eine chromogene Substanz liefern, die erst durch Sauerstoffeinwirkung zu dem Pigment wird.

Der Bacillus ist nicht pathogen.

Der Gonococcus.

Die runden Zellen finden sich meist in Zweitheilung. Die getrennten Hälften sind noch in Verbindung, während eine neue Theilung senkrecht auf die erste Theilungsebene beginnt. So entstehen flächenhafte, aus 4 Coccenexemplaren bestehende Haufen. Die Tetradenform der Haufen ist jedoch nicht immer eine regelmässige.

Methylviolett, Methylenblau, Gentiana, Fuchsin, Vesuvin oder Bismarckbraun färben die Coccen. Doppelfärbung erzielt man durch Eosin und Methylenblau. Die Coccen erscheinen blau, die Zellen roth. Durch Gram werden die Gonococcen entfärbt.

Die Gonococcen liegen grossentheils in Eiterkörpern.

Der Fundort ist das Sekret der Harnröhren- und Genitalschleimhaut, des Cervix und der Conjunctiva, in deren Epithel sie gleichfalls vorkommen. Auf Schleimhäuten mit verhornendem Epithel gedeihen die Gonococcen nicht.

In den Secundäraffectionen bei Tripper (Bubonen, Hoden- und Prostataabscessen, Gonitis) fehlen die Gonococcen. Diese Prozesse sind durch Eitermicroben (Staphylococc. aur.), der in Gesellschaft des Gonococcus vorkommt, veranlasst.

Micrococcus tetragenus.

In Lungencavernen, dem Auswurf Tuberculöser und im normalen Speichel gefunden. In Culturen bilden die grossen, runden Zellen dichte Haufen, während die im lebenden Körper gezüchteten Organismen eine sehr regelmässige Gruppirung zeigen. Es liegen oft 4 einzelne dieser Zellen beisammen, umschlossen von einer gemeinsamen Gallerthülle.

Färbung gelingt mit den gebräuchlichsten Anilinfarben und der Gram'schen Methode. Die Hülle bleibt ungefärbt.

---

[1]) Vgl. Ernst, Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 2. S. 369. 1887.

Sarcine.

Im Magen, Sputum, Lungencavernen, Mundhöhle, Harn und ausserhalb des menschlichen Körpers.

In Jodchlorzinklösung färben sich die Zellhüllen roth violett. Anilinfarbstoffe färben schon in dünnen Lösungen, ohne jedoch einen Kern deutlich zu machen.

Coccen der Fäulniss.

Die in faulen Organen gefundenen Coccen färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben.

Die Organismen bei Diphtherie.

Von den verschiedenen auf und in den Pseudomembranen bei Diphtherie vorkommenden Coccen und Bacillen färben sich die ersteren leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben (Methylviolett 5 B etc.). Von den Bacillen nehmen die unbeweglichen, gekrümmten Stäbchen mit abgerundeten Enden etwa von der doppelten Breite der Tuberkel-Bacillen, die vielleicht in näherer Beziehung als die erstgenannten zu dem diphtherischen Prozess stehen, die gewöhnlichen Anilinfarben schwieriger an, färben sich dagegen leicht mit der alkalischen Methylenblaulösung Löfflers.

Die Organismen bei Pneumonie.

Der häufigste bei Pneumonie vorkommende Organismus ist der lanzettförmige Diplococcus Fränkel's. Seltener ist der Bacillus Friedländer's[1]). Aber auch andere Organismen, Streptococcus pneumoniae (Weichselbaum), der identisch mit dem Streptococcus pyogenes oder erysipelatis sein dürfte, und Staphylococcus aur. werden als die Erreger der croupösen Lobärpneumonie angesehen[2]). Die beiden letztgenannten sind auch die gewöhnlichsten Ursachen der lobulären Pneunomieen. In ihrer Gesellschaft kommen gelegentlich auch noch andere, bacilläre Organismen vor (Schluckpneumonieen und septische Formen).

In einem Falle von fibrinöser Pneumonie fand Löffler eine Bacterienart, welche in die Gruppe der Kaninchensepticämie-, der Hühnercholera-, Schweineseuche-, Wildseuche-, Taubendiphtherie-, Frettchenseuche-Bacterien gehört, in der entzündeten Lungensubstanz bei Abwesenheit des gewöhnlichen Pneumonieerregers. Mosler, Ueber ansteckende Formen von Lungenentzündung. Deutsche medicin. Wochenschrift No. 14. 1889.

Cantani fand in mehreren Fällen contagiöser Bronchopneumonie in dem Sputum einen dem Erysipelstreptococcus sehr ähnlichen Organismus. Cantani, VII. Congress für innere Medizin pag. 429.

---

[1]) Weichselbaum, Wiener klinische Wochenschrift. 1888.

[2]) Sie sind vielleicht nur secundäre Ansiedler in der pneumonischen Lunge, welche die eitrige Schmelzung des Infiltrats veranlassen.

Bei einer Epidemie von croupöser Pneumonie fand Klein weder den Friedländer'schen, noch den Fränkel-Weichselbaum'schen[1]) Organismus, sondern ein kurzes, ovales Stäbchen, bald vereinzelt, bald als Diplobacterium, bald in Ketten neben einigen längeren Stäbchen. Methylenblau, Gentianaviolett und Fuchsin färbten dieselben. (Klein, Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde No. 19. 1889.)

Pneumonie-Bacillus Friedländer's.

An den Enden abgerundete, einzeln, paarweise und in Verbänden auftretende Coccen. Ihre Membran quillt zu einer gallertigen Hülle im Körper auf (daher Kapselcoccen). In Culturen bilden sie keine Gallerthülle. Eigenbewegung fehlt.

Die Organismen färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben. In Gram entfärben sie sich. Doppelfärbungen reussiren nicht. Die Kapsel bleibt in der Regel in Schnitten ungefärbt, nimmt jedoch die Farbe an, wenn Schnitte wie Deckgläser 24 Stunden mit essigsaurer Gentianaviolettlösung:

conc. alkoh. Gentianaviolett .	50,0
destillirtes Wasser	100,0
Acid acet.	10,0

in der Wärme behandelt werden. Entfärben in 0,1procentiger Essigsäure, Alkohol, Oel etc.

Diplococcus der Pneumonie Fränkel's.

Ist ein länglichrunder, lanzettförmiger Diplococcus oder besser Kurzstäbchen. Er bildet auch kurze 5—6gliedrige Ketten. Eine helle Schleimkapsel umgiebt ihn, Eigenbewegung fehlt. Durch Anilinfarben wird er ohne Schwierigkeit gefärbt, während die Kapsel ungefärbt bleibt. Auch der Doppelfärbung ist er zugänglich und auch dem Gram'schen Verfahren, wodurch er sich von dem Pneumonie-Bacillus Friedländer's unterscheidet.

Fundort: die Lunge, ferner verschiedene, andere Organe und Gewebe, Nebenhöhlen der Nase, Paukenhöhle, Hirn- und Rückenmarkshäute, Pleura Pericard, Peritoneum, Herzklappen, Uterus-Schleimhaut, subcutanes und submuscöse Gewebe, Gelenke[2]).

Der Organismus ist demnach nicht nur Entzündungserreger für die Lunge, sondern auch für verschiedene andere Organe[3]).

---

[1]) Weichselbaum, Ueber seltenere Localisationen des pneumonischen Virus. Wiener klinische Wochenschrift. 1888.

[2]) Der Diplococcus pneumoniae wurde auch durch Orthenberger in den weissen Blutkörpern der Körpergefässe nachgewiesen.

[3]) Bei sporadischer Meningitis cerebrosp. wurde einige Male der Diplococcus pneumoniae und der Diplococcus intracellularis meningitidis gefunden. Auch bei epidemischer Meningitis cerebrosp. wurde der Diplococcus pneumoniae beobachtet.

Bacillus des Rhinoscleroms.

Bei diesem zu Granulationsbildungen in der Schleimhaut und Haut führenden Prozess finden sich neben den Elementen des Granulationsgewebes auch kernlose, helle Elemente, die Zellen von Mikulicz, welche wohl als colloid oder hyalin entartete Granulationszellen anzusprechen sind[1]).

In diesen Wucherungen hat zuerst v. Frisch kurze, zu zweien vereinigte Bacillen nachgewiesen, die vorwiegend in den Zellen von Mikulicz ihre Lage hatten. Diese Bacillen sind von einer Gallerthülle umgeben, ähnlich derjenigen bei den Pneumoniecoccen Friedländer's.

Die Rhinosclerombacillen färben sich leicht in Anilinfarben, in Haematoxylin und Carmin und auch mit Gram, im Gegensatz zu den Pneumonie-Bacillen Friedländer's (Dittrich).

Zur Färbung der Kapseln des Rhinosclerombacillus in Schnitten genügt nach Härtung des Gewebsstücks in Osmiumsäure kurze Färbung mit Haematoxylin. Die Kapsel färbt sich hell-, die Bacillen dunkelblau[2]).

Die Erzeugung der Krankheit durch Verimpfung von Rhinosclerombacillen auf Thiere ist bis jetzt nicht geglückt.

Bacillus des Milzbrands.

Die Milzbrandstäbchen sind glashell, an den Enden quer abgestutzt, etwa von der Länge wie der Durchmesser eines rothen Blutkörperchens. In Trockenpräparaten erscheinen die Enden etwas verdickt und die Endflächen vertieft. Sie finden sich im Blut, besonders zahlreich in den feineren Gefässen und mitunter in den Geweben.

Bei zu starker Erhitzung zieht sich das Protoplasma zusammen, zerfällt in Körner und verweigert die Farbaufnahme, die sonst sehr leicht erfolgt.

Methylviolett, Gentianaviolett, Fuchsin und das Gram'sche Verfahren färben rasch und intensiv. Bei dem letzteren ist Jodjodkalium vorsichtig zu gebrauchen; eine Entfärbung durch die Gegenfarbe tritt leicht ein.

Bacillus des malignen Oedems.

Die Stäbchen sind dünn und schmäler als die Milzbrandbacillen, oft zu langen Fäden vereinigt und an den Enden abgerundet. Sie bewegen sich lebhaft. Ihr Fundort ist das Oedem, der Gewebssaft und das Blut; in der Regel sind die Gefässe frei. Sie färben sich mit den wässerigen Anilinfarben in Trockenpräparaten wie Schnitten, weniger mit Gram.

---

[1]) Aetiologie des Rhinoscleroms von Dr. P. Dittrich, Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. V. Bd. No. 5. 1889.

[2]) Frische Gewebsstücke kommen 24 Stunden in Osmiumsäure 1 pCt., darauf in absoluten Alkohol, Färben einige Minuten in erwärmter Anilinwasser-gentianaviolettlösung (6 B), Behandlung nach Gram.

Bacillen der Fäulniss.

Färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben.

Tuberkel-Bacillus.

Eigenthümlich ist das Verhalten der Tuberkel-Bacillen gegen die Anilinfärbung.

Nachdem man sich schon längere Zeit vergebliche Mühe gegeben hatte, den Erreger der Tuberkulose anatomisch nachzuweisen — die ab und zu auftretenden Angaben über Befunde von Micrococcen etc. in den Tuberkeln ermangelten der Zuverlässigkeit — gelang es Koch[1]) durch Anwendung eines modificirten Färbungsverfahrens, das constante Vorkommen eines specifischen Bacillus in den Produkten der Tuberkulose nachzuweisen, Das ursprüngliche Verfahren von Koch, welches bald nach seiner Veröffentlichung durch die Ehrlich'sche Modification in den Hintergrund gedrängt wurde, war folgendes: Der Schnitt (resp. das Trockenpräparat, S. 123 u. folg.) kommt für 24 Stunden in folgende Mischung:

destillirtes Wasser	200,0,
concentrirte, alkoholische Methylenblaulösung	1,0,
10procentige Kalilauge	0,2.

Danach ist er dunkelblau gefärbt und kommt für 15 Minuten in eine concentrirte, wässerige Lösung von Vesuvin. Darauf wird er in destillirtem Wasser abgespült, bis die blaue Farbe geschwunden und eine mehr oder weniger starke braune Tinction zurückgeblieben ist; dann wird in Alkohol entwässert, in Nelkenöl aufgehellt und bei offenem Condensor mit homogener Immersion untersucht. Es erscheinen dann die Kerne, sowie die meisten Arten der Micrococcen braun gefärbt, als ob sie lediglich der Vesuvinlösung ausgesetzt gewesen wären; die Tuberkel-Bacillen dagegen sind intensiv blau. Koch war der Ansicht, dass es auf die alkalische Reaction der Farbelösung ankam, da in sauren oder neutralen Farbelösungen die Bacillen niemals tingirt wurden; die neutrale Lösung eines anderen Farbstoffes verdrängt dann die erste Färbung überall, mit Ausnahme der Tuberkel-Bacillen, welche die ursprüngliche Färbung voll beibehalten.

Es schien sich also um eine specifische Reaction zu handeln, welche allein den Tuberkel-Bacillen gegenüber anderen Schizomyceten zukommt; nur die Leprabacillen verhalten sich nach Koch ähnlich; auch sie behalten die blaue Färbung bei. Dieselben werden aber auch bei Anwendung der einfachen Kernfärbung, auf welche die Tuberkel-Bacillen schwieriger reagiren, gefärbt (s. S. 138).

Bei der bald darnach von Ehrlich eingeführten Modification der

---

[1]) Koch, Die Aetiologie der Tuberkulose. Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 15.

Färbung wird nicht Kalilauge, sondern eine andere Basis zur Herstellung der alkalischen Reaction der Farblösung verwendet, nämlich das Anilin, eine schwach gelblich gefärbte, ölartige Flüssigkeit, deren gesättigte, wässerige Lösung viel mehr Farbstoff aufzulösen vermag, als die verdünnte Kalilösung. Zur Entfärbung dienen starke Mineralsäuren. Ehrlich geht dabei von der Vorstellung aus, dass die Tuberkel-Bacillen, welche nach Koch in neutralen und sauren Farbstoff-Lösungen ungefärbt bleiben, dagegen in alkalischen Lösungen derselben Farbstoffe tingirt werden, von einer Hülle umgeben sind, welche nur für alkalisch reagirende Flüssigkeiten permeabel ist. Ist demnach in der alkalischen Farblösung die Tinction eingetreten, so sind ausser den Bacillen auch die Kerne, Protoplasma, Grundsubstanz etc. tingirt, so dass die Bacillen selbst versteckt bleiben. Bringt man aber dann das Präparat in Säure, so wird die Farbe aus sämmtlichen übrigen Partien, auch aus eventuell sonstigen im Präparat enthaltenen Microorganismen, ausgezogen, da die Säure eine sehr starke Verwandtschaft zu dem Farbstoffe besitzt; in die Bacillen indess kann die Säure nicht eindringen, da die präsumirte Hülle derselben für Säuren undurchgängig ist; daher bleiben die Bacillen in dem sonst vollständig entfärbten Präparate als die einzigen gefärbten Körper übrig und heben sich so in deutlichster Weise hervor.

Ob diese Hypothese der für Säuren und neutrale Lösungen impermeablen, für alkalische Lösungen durchgängigen Hülle der Bacillen richtig ist, muss die Zukunft lehren; jedenfalls erklärt sie bis jetzt die meisten der bekannten Erscheinungen und hat zu der Entdeckung einer Methode geführt, durch welche die Tuberkel-Bacillen und zwar, wie es schien, nur diese, in Geweben und Flüssigkeiten intensiv gefärbt werden.

Die Richtigkeit der Ehrlich'schen Hypothese ist von Ziehl in Abrede gestellt worden; es gelang ihm, auch durch Zusatz von Phenol (welche Substanz meist als Säure fungirt) zu den Anilinfarben die Färbung der Tuberkel-Bacillen zu erreichen. Weiterhin wurde dann von Lichtheim[1]), Giacomi u. A. angegeben, dass einfach wässerige Lösungen von Gentianaviolett und Fuchsin genügen, um in genügend langer Zeit (bei Erwärmung auch rasch) die Tuberkel-Bacillen zu färben, allerdings nicht ganz so intensiv, wie nach der Ehrlich'schen Methode. Ferner sind dann verschiedene neue Methoden zur Färbung der Tuberkel-Bacillen publicirt worden, welche aber sämmtlich, soweit sie zuverlässig sind, nur mehr oder minder unerhebliche Modificationen der Ehrlich-schen Methode darstellen[2]). Sie ist auch von Koch sofort acceptirt

[1]) Vgl. Fortschr. d. Med. Bd. I.

[2]) Vgl. Mittheilungen aus dem k. Gesundheitsamt, Bd. 2, 1884.

worden. Da die letztere, soweit bis jetzt bekannt, von keiner anderen übertroffen ist, theilen wir sie mit. Wir selbst haben niemals Grund dazu gehabt, von diesem Verfahren abzugehen; die Aufzählung der anderen publicirten sogenannten Methoden wäre sehr ermüdend und ohne wesentlichen praktischen Werth. Wir beschränken uns darauf, nur einige der wichtigsten anzuführen.

Als Grundsätze des Ehrlich'schen Verfahrens sind folgende festzuhalten: Während die meisten anderen Schizomyceten durch Gentianaviolett, Fuchsin, Bismarckbraun etc. in wässerigen Lösungen rasch und intensiv gefärbt werden, gelingt dies bei den Tuberkel-Bacillen nicht; wir brauchen hier langdauernde Einwirkung des Farbstoffs (scilicet bei Zimmerwärme). Mit Bismarckbraun ist es überhaupt bisher nicht gelungen, intensive Färbung der Tuberkel-Bacillen zu erreichen; wir verwenden Gentianaviolett oder Fuchsin. Als Lösungsmittel benutzen wir Anilinwasser, d. h. eine gesättigte Lösung von Anilin in Wasser. Ist die Färbung eingetreten, so behandeln wir das Präparat mit Mineralsäuren, Salzsäure oder Salpetersäure und zwar in wässeriger oder alkoholischer Lösung. Diejenigen Bacillen, welche nach der Behandlung mit starken Mineralsäuren ihre Farbe behalten, sind als Tuberkel-Bacillen anzusehen. Die Eigenschaft, in starken Säuren die Färbung festzuhalten, ist für die Tuberkel-Bacillen vollkommen charakteristisch; wir können nur rathen, die Diagnose auf Tuberkel-Bacillen erst dann für sichergestellt zu erachten, wenn die Färbung nach der Säurebehandlung erhalten geblieben ist. Die Säurebehandlung darf also nicht aus Bequemlichkeit unterbleiben. In richtig hergestellten Präparaten müssen alle anderen Gewebsbestandtheile vollständig entfärbt sein, ebenso die eventuell in den Präparaten vorhandenen, anderweitigen Schizomyceten, so dass bei vollständiger Auslöschung des Structurbildes (d. h. bei voller Abbe'scher Beleuchtung) ganz allein die Turberkel-Bacillen in dem Gesichtsfelde übrig bleiben. Um die Einstellung zu erleichtern, sowie um die Lagerungsverhältnisse der Tuberkel-Bacillen in den Geweben deutlich zu machen, kann man ausserdem noch eine Kernfärbung mit einer möglichst contrastirenden Farbe in der bekannten Weise bewirken.

Die Ausführung der Methode findet dann folgendermassen statt:

Die Herstellung der Farblösung, Gentianaviolett in Anilinwasser, ist bereits oben, S. 119 u. 120, genau beschrieben worden. Anstatt Gentianaviolett kann man auch Fuchsin oder verschiedene andere Anilinfarben wählen (Magdala, Dahlia, Methylviolett, Magenta etc.). Es ist gleichgültig, ob der Farbstoff in Substanz oder in concentrirter, alkoholischer Lösung dem Anilinwasser zugesetzt wird. Von dieser Lösung, die man sich wochenlang vorräthig halten kann (das Anilinwasser selbst zersetzt sich im Licht ziemlich rasch), wird in ein Uhrschälchen 10—20 Tropfen oder mehr abfiltrirt; in das Schälchen wird der zu untersuchende Schnitt oder das

Deckgläschen (vgl. S. 125) für etwa 24 Stunden eingelegt. Dann kommt der intensiv gefärbte Schnitt resp. das Deckglas in ein Schälchen mit 20—30procentiger Salpetersäure, worin sie einige Sekunden hin- und herbewegt werden, bis die tiefschwarzen oder tiefrothen Präparate grünlichblau oder grünlichroth geworden sind. Darauf kommen sie in reinen Alkohol von 70pCt. und dann in Oel und Canadabalsam; die Deckglas-Präparate können ebenso gut in Wasser abgespült und direkt in Wasser untersucht werden.

Da das Auffinden der Bacillen, besonders, wo sie nicht in grösserer Menge vorkommen, auch für den Geübten nicht so leicht ist, so thut man am besten, Deckglaspräparate durch eine Gegenfarbe doppelt zu färben (bei blauen Präparaten Bismarckbraun, bei rothen Methylenblau oder Malachitgrün). Die Kernfärbung darf nicht zu intensiv genommen werden, damit die Tuberkel-Bacillen nicht zu sehr verdeckt werden.

Zur Entfärbung kann man auch eine dünnere, alkoholische Lösung der Salpetersäure nehmen (3 Theile Salpetersäure, 100 Theile Alkohol), da sie die Metallinstrumente nicht so sehr angreift. War die Entfärbung nicht vollständig, so tritt nach dem Abspülen der Säure ein Theil der früheren Farbe wieder hervor; dieser Rest wird dann durch combinirte, nochmalige Wirkung der Säure und des Alkohols leicht entfernt. Dagegen persistirt die Färbung der Tuberkel-Bacillen auch bei mehr als viertelstündiger Einwirkung des Säuregemisches.

Eine wesentliche Verbesserung der Methode ist die Schnellfärbung in der Wärme (Rindfleisch). Wir bringen das mit der Farblösung gefüllte Schälchen, welches die Präparate enthält, in einen Thermostaten, der auf 60—80° C. eingestellt ist, oder ganz einfach über eine Spiritusflamme und erhitzen es, bis reichliche Dämpfe entstehen, dann tritt die Tuberkel-Bacillenfärbung in wenigen Minuten ein. Besonders für Deckglaspräparate (Sputa) hat dieses Verfahren rasch allgemeine Verbreitung gefunden; für Schnitte ist es weniger zu empfehlen. Die weitere Behandlung, Entfärbung, event. Doppelfärbung findet dann in gewöhnlicher Weise bei Zimmertemperatur statt.

Die Operationen nach dem Ehrlich'schen Verfahren sind demnach folgende:

1. Färben der Schnitte oder Trockenpräparate in Anilinwasser-Fuchsin oder Gentianaviolett, 20—24 Stunden.
2. Entfärben in 20—33½procentiger Salpetersäure (wenige Sekunden), dass nicht aller Farbstoff verschwunden ist.
3. Alkohol (70 pCt.), bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird.
4. Nachfärbung (wenige Minuten). Für blaue Präparate in Bismarckbraun, für rothe in Methylenblau oder Malachitgrün.
5. Auswaschen in Alkohol oder Wasser.
6. Trocknen resp. Entwässern.
7. Einschluss in Oel oder Canadabalsam.

Ein sehr empfindliches Verfahren für den Nachweis von Tuberkel-Bacillen in Deckglas-Präparaten scheint folgendes von Ehrlich:

1. Färben der Deckglas-Präparate in wässeriger Fuchsinlösung (24 Stunden).
2. Fuchsin-Anilin (24 Stunden).
3. Kurzes Spülen in Alkohol resp. kurze Behandlung mit Sulfanilin-Salpetersäure und nachheriges energisches Abspülen in Wasser.
4. Einlegen in eine concentrirte Natriumbisulfid-Lösung (24 bis 36 Stunden).
5. Einlegen in eine Schale kurz vorher gekochten Wassers.
6. Trocknen der Präparate, Untersuchung derselben ohne Nachfärbung.
7. Canadabalsam.

Verfahren von Ziehl-Neelsen.

Bei dieser Methode ist das Anilinöl durch Carbolsäure ersetzt. Entfärbt wird mit Schwefelsäure, für die auch verdünnte Salpetersäure zu gebrauchen ist.

1. Carbolsäure-Fuchsin
   - Destillirtes Wasser . 100 gr.
   - Acid. carbol. cryst. . 5 „
   - Alkohol . . . . . 10 „
   - Fuchsin . . . . . 1 „
2. Schwefelsäure (5 pCt.).
3. Alkohol (70 pCt.).

Das weitere Verfahren wie sonst.

Die Vortheile dieses Verfahrens sind die grössere Haltbarkeit der Farbe gegenüber den Lösungen in Anilinwasser und die Zeitersparniss. Deckgläser werden bei Zimmertemperatur in einer Viertel- bis halben Stunde, beim Erwärmen der Flüssigkeit in einigen Minuten gefärbt, Schnitte in einer Stunde. Das angetrocknete Präparat wird 3 mal durch die Flamme gezogen, dann einige Tropfen Carbol-Fuchsin darauf gegeben, erwärmt, bis die Flüssigkeit dampft oder Blasen wirft. Kurzes Abspülen in Wasser, Entfärbung in verdünnter Salpetersäure. Alkohol von 70 pCt. Wasser, Gegenfärbung mit Methylenblau oder Malachitgrün.

Kühne's Verfahren.

Zur Färbung von Tuberkelbacillen in Schnitten.

1. Carbolfuchsin[1]) 10 Minuten.
2. Abspülen in Wasser.

---

[1]) Fuchsin . . . . . 1,0.
Alkohol . . . . . 10,0.
Carbolsäure 5procentig. . 100,0.

3. Ausziehen in Fluorescëinalkohol[1]) wenige Minuten.

4. Aetherisches Oel, Xylol, Balsam.

Für Doppelfärbung Einlegen der Schnitte nach 3, in Methylgrün-Anilinöl 5 Minuten.

B. Fränkel's Verfahren.

Dies vereinigt die Entfärbung und Gegenfärbung in einen Akt. Dadurch ist das ganze Verfahren, speciell der Untersuchung des Sputums, sehr vereinfacht.

Anilinwasser wird im Reagenzglas aufgekocht, in ein Schälchen gegossen und alkoholisches Fuchsin bis zur Sättigung zugefügt. Hierin bleiben die Deckglaspräparate 5 Minuten. Darauf kommen sie auf einige Sekunden in die zweite Lösung

Wasser	50
Alkohol	30
Acid. nitric.	20

Methylenblau bis zur Sättigung.

Der Farbstoff wird durch die Säure entzogen, bleibt jedoch in den Bacillen. Die entfärbten Theile aber färben sich sofort mit dem Methylenblau. Abspülen in Wasser und Untersuchung in demselben oder nach Trocknung in Oel oder Canadabalsam.

Gabbet's Färbung.[2])

Das Verfahren ist eine Modification der Ziehl-Neelsen'schen Methode mit der von Fränkel befürworteten Modification des Zusammenziehens der Entfärbung und Nachfärbung in einen Akt.

1. Lösung: 1 Theil Magentaroth (unser Fuchsin),
100 Theile 5procentigen Carbolwassers,
10 Theile absoluten Alkohols.

Deckglas- resp. Schnittpräparate verweilen 2 Minuten in der Lösung. Erwärmung unnöthig. Nach Abspülen in Wasser kommt das Präparat in die

2. Lösung: 100 Theile 25procentiger Schwefelsäure,
1—2 Theile Methylenblau,
Abspülen in Wasser, Trocknen, Einlegen in Canadabalsam.

Die von Lübimoff[3]) vorgeschlagene Färbung der Tuberkelbacillen mit Borfuchsin hat sich nicht bewährt. Die alkoholische Fuchsinlösung ohne Borzusatz färbt entschieden besser. Die Bacillen erscheinen breiter und leuchtender als bei Färbung mit Borfuchsin.

---

[1]) Siehe Entfärben, S. 118, Anmerkung.

[2]) P. Ernst. Gabbet's Färbung der Tuberkelbacillen. Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie. V. Bd. 1888. S. 106.

[3]) Centralblatt f. Bacteriologie und Parasitenkunde. Bd. III. S. 17 und Fortschritte der Medizin No. 16. 1888.

Statt Salpetersäure empfiehlt Peters zur Entfärbung eine Lösung von Natriumhydrosulfid in verdünnter Essigsäure (Natriumhydrosulfid 0,5 gelöst in Aq. destill., Acid. acet. conc. aa 25,0 filtrirt). Dauer der Einwirkung $^1/_2$—1 Stunde. Die Präparate (mit Gentianaviolett gefärbt) sind haltbarer in Balsam als die mit Salpetersäure entfärbten.[1])

Schon bei 300 maliger Vergrösserung, oft sogar ohne Anwendung von Immersionslinsen, sind die Bacillen der Tuberkulose gefärbt zu sehen. Jedenfalls sind indessen die besten Linsen erforderlich, um in schwierigeren Fällen die feinen Bacillen, die vielleicht recht versteckt liegen, zu Gesicht zu bekommen. Ein sicheres Urtheil über die Abwesenheit der Bacillen in einem Präparat, das oft von folgenschwerer Bedeutung sein kann, wird der vorsichtige Beobachter nur dann abgeben, wenn er die besten vorhandenen, optischen Hilfsmittel erschöpft hat; andernfalls würden grobe Irrthümer nicht ausbleiben. Wer demnach Untersuchungen auf Tuberkelbacillen zu diagnostischen Zwecken vornehmen will, muss nothwendig einen Abbe'schen Beleuchtungsapparat und eine starke Immersionslinse, möglichst Oelimmersion, zur Verfügung haben.

Leider sind die Präparate meist nicht haltbar; innerhalb einiger Monate, oft noch rascher, pflegt die Färbung der Bacillen abzublassen oder ganz verloren zu gehen.

Auch ohne Färbung kann man die Tuberkelbacillen nachweisen. Baumgarten hat sie bei Impftuberkulose der Thiere, später auch beim Menschen, durch Behandlung der Schnitte mit Kalilauge constatirt, schon ehe er die Resultate Koch's kannte.

In der That gelingt es, in vielen Fällen von Tuberkulose die Bacillen auf diesem einfachen Wege nachzuweisen; indessen werden wir doch nothwendiger Weise jedesmal die Koch'sche Färbung (mit der Ehrlich-schen Modification) vornehmen müssen. Denn erst dadurch erhalten wir darüber Aufschluss, ob wir es wirklich mit Tuberkelbacillen zu thun haben, da ja, wie erwähnt, die andern Bacillenarten, mit alleiniger Ausnahme der Leprabacillen, dieses specifische Verhalten gegen die Färbungsmethode nicht zeigen. Ausserdem ist es nicht zu bezweifeln, dass uns in vielen Fällen, wo die Bacillen spärlich sind, das Auffinden der Bacillen durch die intensive Färbung derselben wesentlich erleichtert resp. ermöglicht wird. Z. B. in den Tuberkeln der fungösen Gelenkentzündung werden wir durch die Kalimethode wohl nur selten die vereinzelten Bacillen zu Gesicht bekommen, wogegen wir mit der Färbung auch hier fast stets reussiren. Vollends bei Untersuchungen zu diagnostischen Zwecken (Sputa, Eiter etc.) können wir die Färbungsmethode niemals entbehren.

---

[1]) H. Peters, Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbacillen Leipzig (Wigand). 1886. 8°. Zeitschrift f. wissenschaftliche Mikroskopie. IV. Bd. S. 103. 1887.

Die gefärbten Tuberkelbacillen zeigen häufig Unterbrechungen durch helle, ungefärbte Partien von runder oder ovaler Form, welche als Sporen angesehen werden.

Leprabacillus.

Die Organismen sind schlanke, feine Stäbchen mit abgerundeten Enden, vielleicht ein wenig kürzer als die Tuberkelbacillen, denen sie zum Verwechseln ähnlich sind. Keine Eigenbewegung. Helle Stellen in den Fäden werden als Sporen angesehen, ob mit Recht ist noch nicht entschieden.[1])

Der Leprabacillus ist der einzige Organismus, welcher auch auf dieselbe Weise wie der Bacillus der Tuberkulose gefärbt werden kann, aber doch auch wieder dadurch von diesem wenigstens graduell sich unterscheidet, dass die Färbung leichter und rascher erfolgt. Auch in Gram färben sich die Leprabacillen.

Fundort: frei im Gewebe, in den Spalten und Lymphbahnen, im Rückenmark und Nerven, in Lymphdrüsen, in Lunge und Bauchorganen. Im Blute sind die Bacillen noch nicht beobachtet. Das Vorkommen der Bacillen im Innern der Zellen des Lepraknotens wird von Einigen bestritten.

Rotzbacillus.

In Gestalt und Grösse sind diese Bacillen denen der Lepra und Tuberkulose sehr ähnlich, nur etwas kürzer und weniger schlank als die genannten Organismen. Eigenbewegung fehlt. Die Sporennatur lichter Stellen im Innern der Bacillen ist noch nicht sicher gestellt.

In Trockenpräparaten färben sich die Rotzbacillen mit Methylenblau, Gentianaviolett, Fuchsin schon in einfach wässriger Lösung. Intensiver werden sie in alkalischen Farblösungen gefärbt, besonders mit alkalischer Fuchsin- oder Gentianaviolettlösung. Nach 5 Minuten kommen die Präparate aus der Farblösung auf 1 Sekunde in Essigsäure 1 pCt., der durch Tropäolin eine rheinweingelbe Farbe gegeben wurde, darauf wird schnell mit destillirtem Wasser nachgewaschen.

In Schnitten ist eine isolirte Färbung der Rotzbacillen bis jetzt nicht geglückt. Am besten färben sie sich in alkalischer Methylenblaulösung. Sie bleiben hier kaum länger als die Deckglaspräparate und werden in 5—10 Sekunden mit einer Mischung differenzirt, die aus 10 ccm. Aq. destill.,

[1]) Sie treten besonders nach Anwendung der Jod-Pararosanilinmethode von Lutz-Unna hervor. Unna hat deshalb geschlossen, die Leprabacillen beständen aus an einander gereihten Kügelchen und wären keine eigentlichen Bacillen, daher bezeichnet er diese Form als Coccothrix, während andere diese für Artefacte halten. Unna bringt die Schnitte aus Anilinwasserfuchsin in Salpetersäure von 20 pCt., spült in Wasser ab, trocknet sie über der Flamme und schliesst in Balsam ein.

2 Tropfen concentrirter, schwefliger Säure und 1 Tropfen 5 procentiger Oxalsäure besteht. (Löffler.)

Ein neues Verfahren von Kühne ist folgendes:

Die in Carbolmethylenblau gefärbten Schnitte (s. S. 120) kommen in angesäuertes Wasser, worin die Malleusknötchen einen blassblauen Ton annehmen; darauf rasches Abspülen in Wasser, welches durch kohlensaures Lithion schwach alkalisch gemacht wurde. Uebertragung in reines Wasser. Austrocknung statt Entwässerung. Reines Terpentinöl, Xylol, Balsam. (Siehe auch S. 120.)

Syphilisbacillus.

Durch ein eigenthümliches Färbungs- resp. Entfärbungsverfahren ist es Lustgarten[1]) gelungen, in den Produkten der Syphilis eigenthümliche, den Tuberkelbacillen ähnliche Stäbchen aufzufinden. Sie unterscheiden sich sofort von den Tuberkelbacillen dadurch, dass sie bei Behandlung mit Säuren entfärbt werden. Die von Lustgarten geübte Methode ist folgende: Die Schnitte resp. Trockenpräparate werden in Anilinwasser-Gentianaviolettlösung (s. S. 119 u. 120) 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur gefärbt, nachher noch 2 Stunden lang im Brütofen bei 40° in der Farblösung belassen und dann mehrere Minuten in Alkohol absol. abgespült. Die Schnitte werden dann entfärbt und zwar durch die combinirte Wirkung von übermangansaurem Kali (in 1½ procentiger wässriger Lösung 10 Sekunden, wobei ein flockiger Niederschlag entsteht) und von reiner, schwefliger Säure, wiederum in wässriger Lösung, durch welche der Niederschlag rasch gelöst wird. Beim Abspülen in destillirtem Wasser zeigt sich dann gewöhnlich, dass die Entfärbung noch nicht ganz vollständig war; der Schnitt kommt dann abermals wenige Sekunden lang in Kali hypermanganicum, dann wieder in schweflige Säure; event. muss diese Procedur mehrmals wiederholt worden. Ist der Schnitt dann farblos, so kommt er in Alkohol und Nelkenöl, event. Xylol-Canadabalsam.

Die Methode ist etwas complicirt; Giacomi hat dann ein anderes Verfahren mitgetheilt. Nach Fixation werden Deckglaspräparate in heisser Fuchsinlösung mehrere Minuten gefärbt und dann in Wasser, dem einige Tropfen Eisenchloridlösung zugesetzt sind, abgespült und in concentrirter Eisenchloridlösung entfärbt. In der Eisenchloridlösung tritt ebenfalls zu Anfang ein Niederschlag auf; die Entfärbung geschieht dann durch den Alkohol. Die Syphilisbacillen bleiben roth, während die anderen entfärbt werden. Die Methode ist auch für Schnitte anwendbar.

Doutrelepont[2]) färbt die Syphilisbacillen mit wässriger Methylviolett-(6 B)lösung oder nach Brieger mit Thymolmethylviolett 48 Stunden lang und enttärbt nach Giacomi mit Liquor ferri sesquichlorat. und Alkohol

[1]) Lustgarten, die Syphilisbacillen, Wien, 1885. W. Braumüller.

[2]) Viertelj. für Dermatolog. und Syph. 1887.

Da in syphilitischen Herden innerer Organe die Lustgarten'schen Bacillen, wenige Fälle ausgenommen, bei denen vielleicht eine Verwechslung mit Tuberkelbacillen[1]) vorlag, vermisst wurden, so dürfte ihre specifische Natur noch zweifelhaft sein, um so mehr, als ein in vielen Beziehungen ähnlicher Bacillus im Smegma (einfacher Smegmabacillus) Nicht-Syphilitischer gefunden wurde. Solche Smegmabacillen mögen gelegentlich auch in die Syphiliseruptionen gelangen.

Nach neueren Untersuchungen von J. Lewy[2]) unterscheiden sich die Smegmabacillen von denen der Lustgarten'schen Syphilisbacillen in einigen wichtigen Punkten. Erstere werden unter Anderem durch die Färbemethode von Doutrelepont nicht gefärbt.

Wir übergehen die anderen gleichfalls als specifisch betrachteten Organismen, für deren Specifität jedoch noch der experimentelle Beweis fehlt.

Bacillus des Abdominaltyphus.

Kurzes Stäbchen, etwa dreimal so lang als breit, ungefähr ein Dritttheil so gross wie ein rothes Blutkörperchen, mit abgerundetem Ende, lebhaft beweglich. Daneben finden sich auch längere Scheinfäden. Lichtere Stellen in dem Bacillenleib sind vermuthlich Sporen.[3])

Die Bacillen finden sich in der Darmschleimhaut und der übrigen Darmwand, besonders dem Follikelapparat, in den Lymphdrüsen, der Milz, mitunter in der Leber, Niere, Harn, Rückenmark. Auch im Blute und den Dejectionen und im Eiter (Empyem) und subperiostalen Abscessen Typhöser wie in der Lunge sind sie beobachtet.

Im Vergleich mit Fäulnissbacillen färben sich die des Typhus in Schnitten mit Anilinfarben (Methylviolett) nicht sehr scharf. Besser ist die Färbung in Löffler's Methylenblau (24 Stunden) und Ziehl'schem Carbolfuchsin.

In Deckglaspräparaten lassen sich dagegen die Typhus-Bacillen mit den gewöhnlichen Anilinfarben recht gut färben, nur vermeide man Abspülen in Alkohol. Chantemesse und Widal empfehlen Violet 6 B und Fuchsin-Rubin in alkoholischer Lösung verdünnt mit 2 Dritttheilen Wasser. Die Objekte bleiben 1 Minute in der Farbflüssigkeit, werden in Wasser abgewaschen, getrocknet und in Balsam eingeschlossen.

Nach Gram behandelt, verlieren die Bacillen die Farbe.

Bacillus der Cholera asiatica (Komma-Bacillus).

Ein etwas plumpes, lebhaft sich bewegendes Kurzstäbchen, mit abgestumpften Enden und leichter Biegung, daher der Name Komma-Bacillus.

---

[1]) Tuberkelbacillen reagiren auch auf das Verfahren von Lustgarten.

[2]) Lewy, Joseph. Ueber Syphilis- und Smegmabacillen. (Inauguraldissertation.) Bonn, 1889 und Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde No. 19. 1889.

[3]) Vgl. Paul Ernst, Zeitschrift f. Hygiene. 5. Bd. 1889. S. 455.

Kommt theils vereinzelt, theils in Paaren, aber auch in grösseren Verbänden — in langgezogenen Schrauben vor. In den beiden letzten Fällen sehen die Biegungen nach verschiedenen Seiten.

Färben sich am besten in gesättigter, wässeriger Fuchsinlösung, wenn auch nicht immer sehr leicht. Man lässt darum auf Deckgläschen die Farbe etwas länger (10 Minuten) einwirken oder bringt die Präparate in heisse Farbflüssigkeit. Mit Gram erfolgt keine Färbung.[1])

Fundort: die schleimigen Flocken der Cholerastühle. In der Darmwand, in den schlauchförmigen Drüsen, erreichen die Bacillen keine bedeutende Entwicklung. Die diphtheroiden Veränderungen in der Darmschleimhaut werden wohl weniger durch die Komma-Bacillen als durch andere Organismen veranlasst.

Schnitte werden in Fuchsin oder wässeriger Methylenblaulösung gefärbt.

Spirillum des Recurrensfiebers.

Ist ein zartes, lebhaft sich bewegendes Schraubenbacterium, welches mit den gewöhnlichen, wässerigen Anilinfarben in Deckglaspräparaten leicht und intensiv sich färbt.

Findet sich während der einzelnen Fieberanfälle nur im Blut. Naunyn fand es einmal während 2 Wochen täglich.

Recurrensspirillen ertragen Erwärmen schlecht und werden darum besser angetrocknet in Alkohol-Aether fixirt und dann gefärbt.

Carcinom-Bacillus.

Ist wahrscheinlich ein von der äusseren Haut in die oberflächlichen Partien der krebsigen Neubildung (Mamma) gelangter Saprophyt.

Xerosis-Bacillus.

Findet sich nicht nur in den aus fettig degenerirten Epithelien bestehenden Belägen der Lidspalte, sondern auch im Nierenbecken, dessen Epithel eine ähnliche Metamorphose zeigt, und in Blutungen und Geschwüren der Darmschleimhaut. Auch bei verschiedenen Conjunctivalaffectionen und selbst auf der gesunden Conjunctiva ist er nachgewiesen worden. Der Organismus scheint demnach nicht pathogen.

Der Xerosis-Bacillus ist ein kleines Stäbchen (ungefähr so lang wie die Mäusesepticämie-Bacillen, aber etwas dicker). In der Mitte findet sich

---

[1]) Ein beim Gesunden im Speichel vorkommendes Stäbchen, das dem Kommabacillus sehr ähnlich ist, lässt sich nicht wie der Bacillus der Cholera züchten. Der bei Cholera nostras von Finkler und Prior gefundene, den echten Cholerabacillen ähnliche Organismus ist grösser und dicker. Seine Culturen verhalten sich anders als die des letztgenannten. Das Gleiche gilt von Deneke's Bacillus aus faulem Käse. Emmerich's Bacillus ist ein gewöhnlicher Fäcesbacillus.

eine helle Trennungslinie, bei grösseren Stäbchen zwei. Nach Ernst[1]) kommt endogene Sporenbildung vor.

Plasmodium-Malariae.

Als Ursache bei Malaria wird von verschiedenen Forschern ein amöbenartiges Wesen angesehen, welches in den rothen Blutkörpern Malariakranker vorkommt. Es unterscheidet sich nur wenig von der Substanz der rothen Blutkörper. Durch Methylenblau ist dieses Gebilde leicht zu färben.

Diese zu den Mycetozoen gehörenden Wesen sollen das Haemaglobin aufnehmen und zu Melanin verwandeln.

Actinomyces-Pilz.

Für die Untersuchung des frischen Materials, empfiehlt es sich, eine Portion des mit Kochsalz verdünnten Eiters in eine schwarze Schale zu giessen. Mit Pinsel oder Spatel nimmt man die grossen, gallertigen oder gelben Actinomycesklümpchen heraus und untersucht sie entweder in Kochsalz oder nach Zusatz verdünnter Kalilauge.

Die gelben Actinomycesknötchen oder Eiter werden auf Deckgläschen ausgebreitet und an der Luft getrocknet, dann durch die Flamme gezogen. Das Gläschen kommt 2—3 Minuten in Pikrocarmin, dann wird in Wasser oder Alkohol abgespült und in Wasser oder Glycerin untersucht oder man trocknet und bettet in Canadabalsam ein. Schnitte bleiben etwas länger in Pikrocarmin. Die Actinomyceten werden gelb, das umliegende Gewebe roth. (Baranski.)[2])

Israel gebraucht gesättigte Lösung von Orceïn und Essigsäure zur Färbung. Nach längerer Einwirkung der Lösung nimmt der Strahlpilz eine dunkelbordeauxrothe Farbe an, die sich erhält, auch wenn das Gewebe mit Alkohol entfärbt ist.

Actinomyces findet sich in Abscessen, neben Eiter in fibrösen Wucherungen (Rind) und in myxomatösen Knoten (Mensch, Gehirn).

---

[1]) Vorfärbung in Löffler's alkalischem Methylenblau und Nachfärbung in schwacher Lösung von Bismarckbraun.

[2]) Baranski, A. Zur Färbung des Actinomyces. Deutsche med. Wochenschrift. 1887. No. 49. Z. f. wissensch. Mikrosk. 5. Bd. 1888. S. 402.

VI. Beobachtung lebender Gewebe.

Amöboide Zellen, Kreislauf, Entzündung etc.

a. bei Kaltblütern (Frosch).

Im lebenden Gewebe (Froschzunge, Mesenterium, Schwimmhaut) entziehen sich die Wanderzellen einer längeren Beobachtung, und es findet auch bald eine so reichliche Anhäufung derselben statt, daas es kaum ausführbar ist, einzelne längere Zeit im Auge zu behalten. Unter den verschiedenen Verfahren, welche zu diesem Zweck Arnold erprobt, gab das folgende die besten Resultate. Aseptisch wurden Fröschen dünne Hollundermarks-Plättchen von 0,05 bis 0,25 mm., nachdem aus deren Maschen durch Humor aqueus oder Kochsalzlösung alle Luft verdrängt war, in den Rückenlymphsack gebracht. In den Maschen des Hollunder-Plättchens häufen sich die Wanderzellen an, und sind, wenn man in einer Glaskammer dasselbe gegen Verdunstung schützt, tagelang zu beobachten. Auch das dünne Häutchen, welches die Hollunder-Plättchen überzieht, mit der, diesem anliegenden Fläche an die untere Fläche des Deckglases geklebt, ist ein sehr geeignetes Objekt.

Arnold sah an diesen Präparaten Leukocyten mit polymorphem Kern in einer Stunde in 2 Zellen sich durchschnüren. Ob eine mitotische Theilung an den Leukocyten vorkommt, ist noch nicht sichergestellt, aber auch nicht widerlegt.

Durch Fragmentirung entstehen aus grösseren oder kleineren Wanderzellen vielkernige Zellen, von denen sich auch kernhaltige Zellen abschnüren. Wanderzellen, welche in Hollunderplättchen eingedrungen sind, siedeln sich an den Wänden dieser an, platten sich ab und werden zu epithelioiden Zellen.

Um den Kreislauf und seine Störungen bei Fröschen zu beobachten, thut man gut, die Thiere durch Curare zu lähmen. Bringt man ein Körnchen Curare von 0,5—1,0 mm. Durchmesser unter die Haut eines grossen Frosches, so ist das Thier nach etwa einer halben Stunde bewegungslos, während die vegetativen Functionen weiter vor sich gehen; das geringe Sauerstoffbedürfniss des Frosches kann tagelang durch die Hautathmung allein gedeckt werden. Man kann dann hauptsächlich drei Lokalitäten zum Studium des Kreislaufes benutzen [1]).

1. Die Schwimmhaut.

Wir haben bei der Schwimmhaut den Vortheil, dass keinerlei Verwundung nothwendig ist, um an ihr die Lebensvorgänge zu beobachten,

---

[1]) Der Frosch wird mit einigen Lagen Fliesspapier bedeckt, welches feucht erhalten wird. Man verwende nur frische Frösche. Längere Zeit gefangene ertragen Curare schlecht, die Circulation erlahmt bald.

es genügt, zwei Zehen von einander zu entfernen und zu fixiren. Für viele Beobachtungen ist in Folge dessen dieses Objekt sehr werthvoll; indessen steht es den anderen, gleich zu erwähnenden Objekten an Durchsichtigkeit nach; auch wenn man möglichst pigmentarme Thiere aussucht, stören doch die Pigmentzellen durch die harten Conturen der mehrfach geschichteten Epithelzellenlagen. Ausserdem kommen eigentliche Entzündungsvorgänge in dem straffen Gewebe nur in sehr geringer Ausdehnung zu Stande; durch die verschiedensten Irritamente erhält man entweder nur Kreislaufstörungen, Gefässdilatation und Contraction oder Necrosen; entzündliche Schwellungen bleiben gewöhnlich aus.

2. Zunge.

Die Zunge wird aus der Mundhöhle herausgezogen, über einen Korkring gespannt und mit feinen Insektennadeln oder Igelstacheln auf dem Korkring fixirt; die Nadeln werden dann kurz abgeschnitten. Sie ist aber ohne Weiteres für Untersuchungen mit starken Linsen meist noch zu undurchsichtig; man entfernt daher mittelst einer feinen Scheere ein Stückchen von der nach oben gekehrten, ursprünglich unteren Fläche. Durch Schonung der sichtbaren Gefässe sucht man das Eintreten von Blutung möglichst zu vermeiden; eventuell wird das Blut durch Kochsalzlösung abgespült. Ist das Beobachtungsfeld rein, so wird das Deckglas aufgelegt und durch Zutröpfeln von Kochsalzlösung jede Eintrocknung verhindert. Der Frosch und der die Zunge tragende Korkring liegen auf einer Glasplatte, welche dann direkt unter das Mikroskop geschoben wird. Dann kann die Beobachtung beginnen und eventuell Stunden, selbst Tage hindurch fortgesetzt werden. Die Spannung der Zunge darf nicht zu stark sein, damit keine Blutstauung eintritt.

Ein so vorbereitetes Objekt ist auch für die starke Linse vollständig geeignet; die Auswanderung der weissen und rothen Blutkörper ist hier sehr gut zu constatiren, als Entzündungsreiz wirkt die gesetzte Verwundung.

3. Mesenterium.

Man verwende grosse männliche Frösche (kenntlich an den Daumendrüsen), um nicht durch die Eileiter und Ovarien gestört zu werden. Man macht dann in der Axillarlinie einen Hautschnitt durch die untere Hälfte des Rumpfes; die etwa eintretende Blutung hört bald auf, dann wird der Schnitt durch die Muskulatur geführt und die Bauchhöhle in der Länge von 10 bis 20 mm. eröffnet. Man zieht dann mit stumpfer Pincette vorsichtig eine Dünndarmschlinge hervor; dieselbe wird in der für die Zunge beschriebenen Weise über einen auf der Glasplatte befestigten Korkring von entsprechender Weite gespannt und auf dem Kork fixirt. Das Mesenterium darf dabei nicht zu stark gespannt werden, sonst kommt Stauung

zu Stande; es wird dann mit dem Fragment eines Deckgläschens bedeckt[1]) und stellt so ein prachtvolles Objekt für die Untersuchung mit stärksten Linsen dar. Das Mesenterium wird durch Kochsalzlösung vor dem Vertrocknen geschützt. Je vorsichtiger die Präparation ausgeführt, je mehr jede Spannung und sonstige, mechanische Beleidigung vermieden worden ist, desto länger dauert es, bis exquisite Entzündungserscheinungen, Randstellung der weissen Blutkörper, Auswanderung, Thrombose etc. zu Stande kommt. Man ist natürlich an der präparirten Zunge wie am Mesenterium in der Lage, jeden beliebigen Insult, Verwundung etc. auf die Substanz wie auf die Gefässe einwirken zu lassen.

Die Lunge und Harnblase des Frosches lässt sich leicht in ähnlicher Weise zur mikroskopischen Untersuchung vorbereiten.

4. Cornea.

Auch die überlebende Cornea des Frosches giebt ein gutes Objekt für Beobachtung pathologischer Processe, besonders der Entzündung. Die normale oder in Entzündung versetzte Cornea (z. B. durch Aetzung) wird vorsichtig herausgeschnitten und in dem Tröpfchen humor aqueus, der sich dabei entleert, auf den Objektträger gebracht; eventuell wird der Rand mehrfach eingeschnitten, damit man die Membran glatt ausbreiten kann. Die Lebenserscheinungen der Zellen, sowohl der Wanderzellen wie der fixen Cornealzellen, lassen sich an der ausgeschnittenen Cornea noch viele Stunden lang beobachten.

b. Bei Warmblütern.

Die direkte Beobachtung des Kreislaufs beim lebenden Säugethiere ist eine viel schwierigere Aufgabe; es ist erforderlich, die betreffende Membran während der Beobachtung bei Körpertemperatur zu halten. Eberth und Schimmelbusch[2]) ist es gelungen, durch folgende, verhältnissmässig einfache Anordnung die Schwierigkeiten zu überwinden. Die Thiere werden in ein continuirlich frisch gespeistes Bad von indifferenter Kochsalzlösung gebracht, dessen Temperatur constant auf etwa 38 ^{0} gehalten wird. Man benutzt am besten kleine Thiere, bis zu 500 gr., die Wanne wird dann mit ihrem Boden von Spiegelglas auf den Objekttisch gesetzt; das Thier wird mit Chloralhydrat oder Chloroform und Morphium narcotisirt resp. passend gefesselt. Die Beobachtung geschieht am Mesenterium einer Dünndarmschlinge oder am Omentum, das durch eine Lapa-

ratomiewunde herausbefördert wird; die Mikroskoplinse wird in die warme Kochsalzlösung immergirt.

Bei grösseren Thieren steigen die Schwierigkeiten; man kann eine grössere Wanne mit Seitenwänden von Glas anwenden, in die zugleich das Thier und das Mikroskop hineingesetzt wird; das Licht wird dann durch die Seitenwand der Wanne bezogen. Oder das Thier wird in Seitenlage fixirt, in gleiche Höhe mit dem Objekttisch gebracht und nur das Omentum resp. das Mesenterium mit Darmschlinge in das Kochsalzbad gebracht. Das Hauptprincip ist die tiefe Immersion der zu beobachtenden Membran und der Objektivlinse in warme Kochsalzlösung.

Das Mesenterium wird auf einer runden, auf Korkstützen über dem Boden der kleinen Wanne prominirenden Glasplatte einfach ausgebreitet und für regelmässigen Ab- und Zufluss warmer Kochsalzlösung gesorgt. Um Abkühlung der Thiere zu vermeiden, werden sie mit warmen Tüchern bedeckt[1]).

Eberth und Schimmelbusch haben durch Anwendung dieser Methode die normale Circulation lange Zeit hindurch (6-8 Std.) bei starker Vergrösserung beobachten können; sie konnten das Vorkommen der Blutplättchen im strömenden Blut constatiren und weiterhin den sehr wichtigen Nachweis führen, dass der Beginn der Thrombose in einer Anhäufung der Blutplättchen (nicht der Leukocyten, wie früher gelehrt wurde) besteht. Insofern bestätigen sie die Angaben von Bizzozero; dagegen bestreiten sie die Angaben des italienischen Autors, dass auch die postmortale Blutgerinnung von den Blutplättchen ausgehe; diese Blutgerinnung ist nach ihren Beobachtungen lediglich einem Crystallisationsprocess im Plasma zu vergleichen; weder die Blutplättchen noch die weissen Blutkörperchen spielen dabei eine morphologisch nachweisbare Rolle.

Neuerdings hat Laker durch Beobachtungen am Flügel der lebenden Fledermaus die Ansicht von Bizzozero, Eberth und Schimmelbusch, welche die Blutplättchen als constante und normale Bestandtheile des circulirenden Säugethierblutes betrachteten, entgegen Löwit, der sie als Artefacte erklärte, bestätigt. Virchow's Archiv Bd. 116, 1889.

---

[1]) Kaninchen lassen sich auch ohne jede Narkose für unsere Zwecke hinreichend immobilisiren.

Für kleinere Hunde genügen zur Narkose 2—3 gr. 5 procentige Chloralösung subcutan. Grössere Hunde werden mit Morphium und Chloral narkotisirt. Ein mittelgrosser Hund erhält subcutan eine wässrige Lösung von Morph. sulf. 1 : 30), 7—10 Pravaz'sche Spritzen unter die Rückenhaut und dann nach und nach 1—2 gr. Chloralhydrat.

VII. Untersuchung von Flüssigkeiten.

Die mikroskopische Untersuchung von Flüssigkeiten für ärztliche und pathologisch-anatomische Zwecke ist ausserordentlich lohnend; in vielen Fällen giebt ein Blick ins Mikroskop die sichere Diagnose eines vorher unklaren oder falsch aufgefassten Krankheitszustandes. Sie bietet geringe technische Schwierigkeiten; es handelt sich zunächst nur darum, einen kleinen Tropfen der Flüssigkeit mittelst des Glasstabes auf den Objektträger zu bringen und ihn mit dem Deckglase zu bedecken. Der Tropfen soll nicht so gross sein, dass die Flüssigkeit über den Rand des Deckglases hinüberreicht, auch nicht so hoch, dass das Deckglas frei schwimmt.

Unsere Aufgabe geht nun dahin, die in der Flüssigkeit enthaltenen, morphotischen Elemente zu untersuchen.

In sehr vielen Fällen sind dieselben schon mit blossem Auge zu constatiren, sei es als diffuse, wolkige Trübung, sei es als gröbere Flocken oder körnige Niederschläge. Man wird natürlich zunächst diese Theile zur mikroskopischen Untersuchung verwenden, indem man sie mit einem kleinen Löffel oder einer Pincette oder Nadel oder Pipette aufsammelt und bei allmälig gesteigerter Vergrösserung betrachtet. Das erste ist also stets eine genaue makroskopische Besichtigung der zu untersuchenden Substanz und zwar bei durchfallendem sowohl, wie bei auffallendem Licht, eine Regel, die, so selbstverständlich sie klingt, doch von dem Anfänger allzu oft ausser Acht gelassen wird.

Sind geformte Elemente in sehr geringer Anzahl vorhanden, so untersucht man diejenige Schicht der Flüssigkeit, in der sie noch am reichlichsten zu finden sind, also meist den Bodensatz, da die geformten Elemente in den meisten Fällen specifisch schwerer sind, als die Flüssigkeit, nur die Fette schwimmen auf der Oberfläche. Weniger zu empfehlen ist es, die Flüssigkeit zu filtriren und den Rückstand von dem Filter zu sammeln, da hierbei Verunreinigungen sich nicht sicher vermeiden lassen. In anderen Fällen sind die morphotischen Elemente so reichlich, dass man eine extrem dünne Schicht anwenden muss, um zu verhindern, dass sie in mehreren Lagen über einander liegen und sich gegenseitig verdecken. Bei sehr dicken und breiartigen Flüssigkeiten wird es nothwendig, sie zu verdünnen, um die Untersuchung möglich zu machen; wir wenden dazu Serum oder gewöhnlich Kochsalzlösung von 0,75 pCt. an.

Lebenseigenschaften der suspendirten Elemente. Amoeboide Bewegungen.

Abgesehen von diesem letzten Falle finden wir also die Elemente in ihrem natürlichen Menstruum und können dann darauf rechnen, sie in möglichst unverändertem Zustande vor Augen zu bekommen, vorausgesetzt,

dass alle ungünstigen Einwirkungen vermieden werden. Besonders, wenn man die Lebenserscheinungen der in dem Fluidum suspendirten Elemente studiren will, muss man verschiedene Vorsichtsmaassregeln beachten.

Da kommt zunächst der Druck des Deckglases in Betracht, welcher nicht nur durch das Gewicht des Glases, sondern noch viel mehr durch die Capillarattraction bei dünner Flässigkeitsschicht ein sehr hoher werden kann; wenn es erforderlich ist, muss daher das Deckglas gestützt werden, etwa durch untergelegte Fragmente von Deckgläschen, Papierstreifen.

Weiterhin muss verhindert werden, dass die Flüssigkeit verdunstet und dadurch in ihrer Concentration sich ändert; dieser Uebelstand tritt am Rande des Präparats sehr schnell ein, langsamer noch in der Mitte desselben, natürlich um so langsamer, je höher die Flüssigkeitsschicht ist, und je weiter wir uns von dem Rande entfernen. Man kann die Verdunstung auf ein Minimum reduciren, wenn man über das Präparat eine Art feuchter Kammer deckt; man nimmt einfach ein etwa 2 bis 3 cm. hohes, weites Glasrohr, etwa ein abgesprengtes Stück eines Lampencylinders; dieses wird inwendig mit feuchtem Fliesspapier in dicken Lagen ausgepolstert und über das Präparat gebracht, welches auf einem breiten Objektträger liegt; von oben her wird es durch das Mikroskoprohr grösstentheils verschlossen. Oder man verbindet den Glasring mit dem Mikroskop durch einen Aermel dünnen Kautschucks. (Feuchte Kammer nach Recklinghausen. Fig. 43.)

Besser ist es, die Flüssigkeit im hängenden Tropfen zu untersuchen, indem man Objektträger mit Zellen von etwa 1—2 mm. Tiefe benutzt; die letzteren stellt man sich durch aufgekittete Glasringe oder Glasleisten leicht her, oder bezieht sie als sogenannte hohlgeschliffene Objektträger vom Optiker. Wenn man dann den Rand der Zelle mit Oel oder Vaselin bestreicht, das Tröpfchen Flüssigkeit auf die Mitte des Deckglases bringt und zwar auf die untere Fläche desselben, so kann man leicht einen luftdicht abgeschlossenen Raum herstellen, innerhalb dessen eine weitere Verdunstung nicht stattfindet (Fig. 44). Dies ist die Art und Weise, wie wir Flüssigkeiten zu untersuchen haben, um event. Bewegungserscheinungen der darin enthaltenen Schizomyceten zu studiren. Lassen wir dann zwei Röhren in die Zelle einmünden, so können wir die Einwirkung von Gasen auf die im hängenden Tröpfchen enthaltenen Elemente mikroskopisch studiren (Gaskammer). Oder man benutzt einen Objektträger mit Rinne (Fig. 45). Eine kreis-

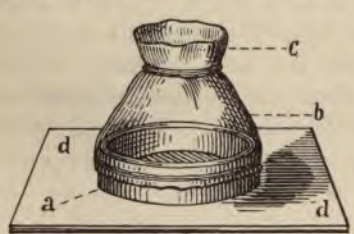


Fig. 43.
Feuchte Kammer nach v. Recklinghausen.
b, c Kautschukärmel, a Glasring, d Objektträger.

förmige Rinne r umschliesst eine vertiefte Fläche o. Die Rinne wird mit Wasser gefüllt. Das Deckplättchen trägt an seiner unteren Fläche das zu untersuchende Objekt.

Die sogen. „amoeboiden" Protoplasmabewegungen, eventuell auch Theilungsvorgänge etc. der lebendigen Zellen, sind auf diese Weise zu beobachten; dabei ist natürlich jede Strömung in der Flüssigkeit selbst zu vermeiden, damit nicht etwa durch eine Drehung der Elemente eine Gestaltsveränderung derselben vorgetäuscht werde. Die farblosen Zellen des Blutes und der Lymphe, die Eiter- und Schleimkörperchen, viele der Zellen, die man in Exsudaten antrifft, auch

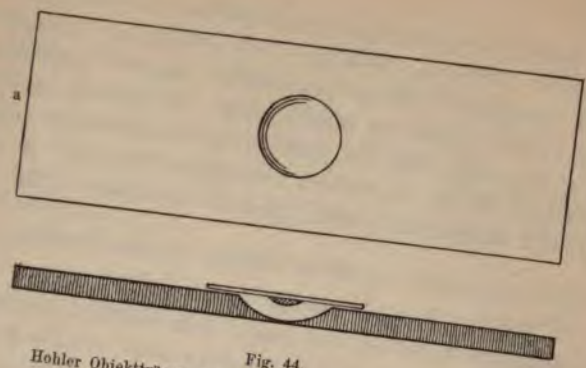


Fig. 44.
Hohler Objektträger, a von der Fläche, b im Durchschnitt.

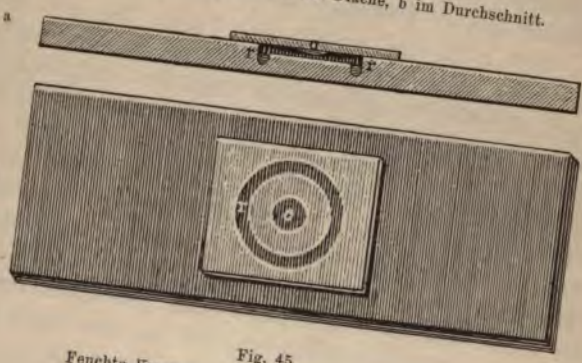


Fig. 45.
Feuchte Kammer, a im Durchschnitt, b von oben.

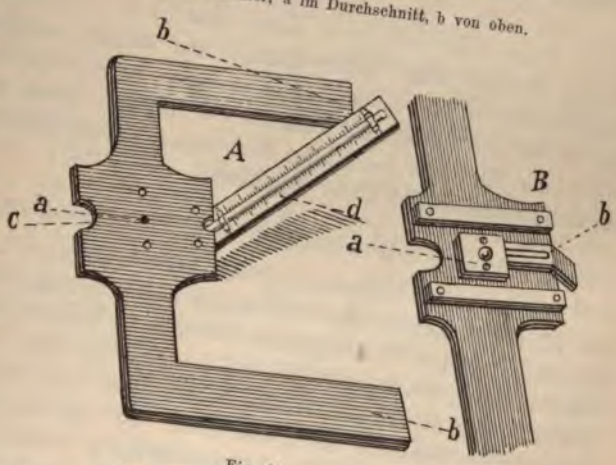


Fig. 46.
Max Schultze's heizbarer Objekttisch.
b die Seitenarme, welche mit Lampen erwärmt werden, a Oeffnung zum Durchtritt des Lichtes, auf welche das Objekt gelegt wird, c Ausschnitt für das Mikroskop, d Thermometer. A Ansicht von oben, B Ansicht von unten.

len geben Gelegenheit zu diesen höchst interessanten, fesselnden Beobachtungen. Wer an derartige Untersuchungen herangehen will, der muss von vornherein mit der peinlichsten Sorgfalt verfahren, vor Allem aber mit grosser Geduld zu Werke gehen. Die Bewegungen sind fast stets nur sehr langsame, auch bei Anwendung des heizbaren Objekttisches; für den letzteren ist der Objekttisch nach Schultze oder die von Stricker und Löwit angegebene Construction zu empfehlen. (Fig. 46.)

Die Form der Elemente.

Indessen haben wir es meist mit Elementen zu thun, deren Form vollständig fixirt ist, und haben dann lediglich die Aufgabe, dieselbe genau zu studiren. Dazu ist es naturgemäss erforderlich, dass wir den betreffenden Körper von allen Seiten zu sehen bekommen; denn es ist ja klar, dass z. B. eine kreisförmige Figur, die wir im Mikroskop sehen, ebensowohl einer Scheibe, als einer Kugel, einem Cylinder und einem Kegel angehören kann; auch ein Ellipsoid, ein eiförmig oder noch unregelmässiger gestalteter Körper kann unter Umständen im mikroskopischen Bilde als Kreis erscheinen. Wir helfen uns hier zunächst durch die Mikrometerschraube, indem wir die Contur des zu beobachtenden Gegenstandes in verschiedenen Höhen erhalten und sein stereoskopisches Bild combiniren; weiterhin aber durch passive Bewegungen, die wir mit ihm vornehmen, indem wir ihn um seine verschiedenen Achsen rollen lassen; am einfachsten durch Erregung eines Flüssigkeitsstroms, etwa durch ein saugendes Fliesspapierstückchen, das an den Rand des Deckglases gelegt wird, oder durch einen mittelst der Nadel auf das Deckglas ausgeübten Druck. Der Anfänger wird dabei manchmal bei diesen Manipulationen den qu. Körper nicht allein drehen und wälzen, sondern ganz aus dem Gesichtsfelde verlieren; bald indessen eignet er sich die nothwendige Zartheit in der Abstufung des Druckes etc. an, und kann dann die Configuration der Elemente nach allen Richtungen scharf beurtheilen und so ihre stereometrische Figur leicht feststellen.

Untersuchung von Gewebssaft etc.

Oft ist es bei Untersuchung von frischen Organen von grossem Werth, die Elemente, Zellen etc. derselben in isolirtem Zustande rasch zu untersuchen; in vielen Fällen gelingt dies nun in höchst einfacher Weise durch Untersuchung des abgestrichenen Gewebssaftes. Man stellt sich zu diesem Zwecke stets zuerst eine frische Schnittfläche her, über die man mit der Schneide des Scalpells herüberstreicht. Je nach der Festigkeit der Elemente einerseits und des Zusammenhanges derselben, resp. der Kittsubstanz etc. andererseits, gelingt es durch Anwendung eines stärkeren oder gelinderen Druckes, die Elemente der meisten parenchymatösen Organe, oder wenigstens einige derselben, in dieser einfachen, höchst bequemen

Weise zu isoliren. Man muss natürlich dabei stets an die engen Grenzen der Methode sich erinnern; dann aber kann man durch dieselbe viel Zeit ersparen, da es in vielen Fällen zur Beantwortung bestimmter Fragen gar nicht nöthig ist, exacte Schnitte des betr. Organs zu untersuchen, wenn nämlich die isolirten Elemente hinreichend charakteristisch sind.

Der abgestrichene Gewebssaft muss in den meisten Fällen verdünnt werden, ehe er zur mikroskopischen Untersuchung kommt; man benutzt dazu in der Regel Kochsalzlösung.

Bei manchen weichen Geweben gelingt es durch Einstechen einer feinen Glascapillare, die Gewebsflüssigkeit mit den darin suspendirten Elementen in die Capillare hineinzusaugen; E. Neumann wendet diese Methode besonders zur Untersuchung des lymphoiden Knochenmarks etc. an. Jedenfalls erhält man auf diese Weise die Elemente in ihrem natürlichen Menstruum.

In sehr einfacher Weise gelingt es, die Elemente weicher Gewebe durch leichtes Zerzupfen mit Nadeln zu isoliren; das Gewebsstück wird in einem Tropfen Kochsalzlösung rasch in kleine Stücke zerrissen. Der Flüssigkeitstropfen wird dabei durch die aus dem Gewebsstück herausgerissenen, isolirten zelligen Elemente etc. erfüllt; man untersucht die frei in der Flüssigkeit schwimmenden Theile, sowie die Gewebsfragmente selbst, welche wenigstens an ihren Rändern genügend durchsichtig geworden sind. Bei faserigen Geweben, z. B. Muskeln und Nerven, isolirt man durch vorsichtiges Zupfen mit der Nadel die Elemente in ihrer Längsrichtung.

Untersuchung auf Microorganismen.

Bei der grossen und stets zunehmenden Wichtigkeit, sowie der Besonderheit des Gegenstandes ist es wohl geboten, die Untersuchung von Flüssigkeiten auf Microorganismen, speciell auf Schizomyceten, gesondert zu besprechen.

Zuvörderst ist es klar, dass hierbei jede Verunreinigung strengstens ausgeschlossen sein muss; schon bei dem Auffangen der Flüssigkeit muss auf absolute Sauberkeit der Gefässe, Canülen etc. geachtet werden. Weiterhin muss die Untersuchung stets in vollkommen frischem Zustande gemacht werden; schon in wenigen Stunden können sich bei geeigneter Temperatur Microorganismen in grosser Zahl entwickeln, da ihre Keime überall verbreitet sind. Die letzteren finden sich an den Wänden jedes noch so sauberen Gefässes, auf jedem Wischtuch; in geringerer Quantität auch in der atmosphärischen Luft, besonders in bewohnten Räumen (Krankensälen, Laboratorien etc.), es bedarf ganz besonderer Vorsichtsmassregeln, u. A. Erhitzen sämmtlicher Geräthe auf mehr als 100° durch längere Zeit, um Flüssigkeiten ohne Beimengung von accidentellen Keimen kleinster Organismen aufzufangen und zu conserviren. Die

noch in den letzten Jahren wiederholt auftauchende Annahme einer Generatio aequivoca von Spaltpilzen beruhte jedesmal auf der Vernachlässigung einer der nothwendigen Cautelen.

Wir untersuchen also die Flüssigkeit stets vollkommen frisch; d. h. unmittelbar nach der Entleerung vom Lebenden oder von der Leiche; im letzteren Falle werden wir die Möglichkeit einer postmortalen Entstehung derselben zu berücksichtigen haben. Sehr zu empfehlen ist eine Methode, die durch R. Koch eingeführt worden ist: die Flüssigkeitsprobe wird mittelst eines in einem Glasstab befestigten Platindrahtes entnommen und übertragen, der unmittelbar vorher und nachher durch Glühen sehr leicht und sicher gesäubert werden kann.

Die Untersuchung der Flüssigkeit geschieht zunächst direkt, ohne jeden Zusatz; in diesem Falle ist man dann ganz sicher, dass die etwa gefundenen Organismen wirklich der Flüssigkeit selbst angehören. In vielen Fällen erkennt man dann die Organismen an ihren lebhaften Bewegungen. Allerdings ist es nothwendig, in dieser Beziehung recht vorsichtig zu sein, da kleine, in Flüssigkeiten suspendirte Körper fast stets eine tanzende, unter Umständen sehr lebhafte Bewegung zeigen, Brown'sche Molecularbewegung. Von der Energie dieser grösstentheils wohl durch Verdunstungsströme etc. hervorgerufenen Bewegungen macht man sich gewöhnlich nicht die richtige Vorstellung; um eine Anschauung davon zu gewinnen, vertheile man ganz fein pulverisirtes Carmin in einem Wassertropfen und untersuche diesen mit starker Vergrössung; man wird zu Anfang im höchsten Grade erstaunt sein über die Rapidität und scheinbare Spontanëität der passiven Bewegungen der Carminkörper. Ehe man also ein Urtheil über „spontane Bewegungen" von Körnchen etc., die man als Microorganismen anzusprechen geneigt ist, wagt, ist es dringend geboten, sich mit den Brown'schen Molecularbewegungen vollständig vertraut zu machen. Glaubt man es dennoch mit vitalen Bewegungen zu thun zu haben, so muss man dies jedenfalls noch dadurch erhärten, dass man den Nachweis führt, dass die Bewegung aufhört, wenn man Bedingungen einführt, die mit dem Leben der Organismen unvereinbar sind; also z. B. Erwärmung, Behandlung mit starken Säuren und Alkalien.

Die meisten der uns interessirenden Microorganismen (es kommen hauptsächlich Schimmelpilze, Hefe- oder Sprosspilze und Spaltpilze in Betracht) sind gegen diese Reagentien sehr resistent; nur die Spirochäten des Recurrensblutes machen eine Ausnahme, indem sie in allen differenten Reagentien, sogar schon in destillirtem Wasser, sehr rasch zu Grunde gehen. Man kann diese Resistenzfähigkeit der Microben auch zu ihrer Diagnostik verwerthen, da protoplasmatische Körner z. B. in starken Säuren und Alkalien aufgelöst werden, während die Schizomyceten unverändert bleiben. Namentlich wenn die letzteren in grosser Masse zusammenliegen, in sogenannten Colonien, als Zoogloeahaufen, treten sie

nach Behandlung mit starker Essigsäure oder Natronlauge oft sehr deutlich hervor, da die zelligen Elemente und sonstige körnige Massen, welche vorher die Colonien etwa verdeckten, vollständig aufgehellt werden. Auch die Anordnung in Ketten, oder die charakteristische Form der Einzelindividuen, Stäbchen, Ovoid etc. ermöglicht oft die Diagnostik der Microorganismen ohne weitere Schwierigkeiten. Immerhin muss man sich vor Verwechselungen zu hüten suchen; körnige, unorganisirte Niederschläge können als Micrococcen, kleinste Krystalle können als Bacillen imponiren; selbst kleinste Fettkörnchen können einem leichtfertigen Untersucher Gelegenheit zu Irrthümern geben.

Die Koch'sche Methode der Färbung des Trockenpräparats.

In der That ist es unter Umständen durchaus nicht leicht, oft sogar positiv unmöglich, bei einfacher Betrachtung und durch die gewöhnlichen, microchemischen Reactionen ein sicheres Urtheil über die Bedeutung kleinster Körnchen zu gewinnen, die in einer Flüssigkeit enthalten sind. Für diese wie überhaupt für alle schwierigen Fälle, sowie überall da, wo es sich um Herstellung von Dauerpräparaten handelt, ist dann die Methode der Trocknung und Färbung anzuwenden, die wesentlich von R. Koch und P. Ehrlich herrührt. (Siehe auch Nachweis und Färbung der Schizomyceten-Deckglaspräparate S. 123).

Die Methode geht von folgenden zwei Thatsachen aus:

1. Bei rascher Eintrocknung einer dünnen Flüssigkeitsschicht bleibt die Form der zelligen Elemente und der Schizomyceten der Hauptsache nach unverändert.
2. Die Schizomyceten sind durch eine grosse Verwandtschaft zu den basischen Anilinfarbstoffen ausgezeichnet und lassen sich auf diese Weise von anderweitigen körnigen etc. Gebilden unterscheiden.

Immerhin ist zu beachten, dass nicht die Schizomyceten allein, sondern auch andere Körper, z. B. die Zellkerne und deren Fragmente, gewisse Protoplasmakörner, dieselbe Verwandtschaft zu den betreffenden Farbstoffen zeigen, so dass auch bei Anwendung dieser Methode immer noch eine strenge Kritik in der Verwerthung der Befunde erforderlich ist. Ausserdem ist es wohl denkbar, dass es Schizomycetenformen geben könnte, denen diese Verwandtschaft nicht zukommt; die bisher bekannten Formen zeigen sämmtlich eine sehr intensive Tinctionsfähigkeit; manche Formen indessen, z. B. die Tuberkel-Bacillen, nur unter ganz bestimmten Modalitäten.

Die Methode wird in der Weise gehandhabt, dass man die Flüssigkeit in allerdünnster Schicht auf dem Deckgläschen (resp. Objektträger) ausbreitet, und zwar entweder indem man das Tröpfchen mit der Nadel resp. dem Platindraht in eine feinste Schicht vertheilt, oder indem man ein anderes Deckglas darauf legt und wieder entfernt (s. S. 124). Der Anfänger fehlt leicht dadurch, dass er zu dicke Schichten aufträgt. Dann wird die Flüssigkeit an der Luft getrocknet und für einige Minuten einer Temperatur

von 120° ausgesetzt; es genügt auch, das Glas mit dem angetrockneten Fluidum drei Male vorsichtig durch die Flamme eines Gasbrenners hindurch zu ziehen. Die Erhitzung ist besonders für eiweissreiche Flüssigkeiten erforderlich, sie hat hauptsächlich den Zweck, das Eiweiss in eine unlösliche, homogene Modification überzuführen; sie darf aber, wenn es sich um Schizomyceten handelt, nicht länger als 5 bis 10 Minuten fortgesetzt werden, da sonst die Färbbarkeit der Schizomyceten Schaden leidet. Ist die Erhitzung geschehen[1]), so wird das Präparat gefärbt in der früher angegebenen Weise, dann in destillirtem oder in leicht angesäuertem Wasser abgespült. Man kann nun entweder im Wasser untersuchen oder, was vorzuziehen ist, nachdem das Wasser verdunstet ist, in ätherischem Oel oder Balsam (s. oben).

In einem derartigen Präparat sind nun die zelligen Elemente in ihrer Form meist vollkommen gut erhalten; die bei der Ausbreitung der Flüssigkeit erzeugten Formveränderungen an einzelnen derselben (kometenartige Figuren) sind sehr leicht als solche zu erkennen. Besonders intensiv gefärbt sind die Kerne und ausserdem die Schizomyceten, die auf diese Weise höchst frappant zur Erscheinung gebracht werden.

Diese Methode ist unzweifelhaft die beste der bisher bekannten Methoden zum Nachweise von Microorganismen in Flüssigkeiten (event. mit den oben angegebenen Modificationen). Mit Niederschlägen hat man hauptsächlich bei schleimhaltigen Flüssigkeiten, z. B. Gelenkinhalt, zu kämpfen, da der Schleimstoff mit diesen Farbstoffen ebenfalls eine mässig intensive Färbung annimmt; trotzdem ist auch hier nur wenig Uebung erforderlich, um die regelmässig gestalteten, körnigfädigen Massen richtig zu deuten. Durch kurze Behandlung der gefärbten Präparate mit einer dünnen Jod-Jodkaliumlösung tritt die Färbung der Schizomyceten gewöhnlich noch intensiver zu Tage; eventuell kann man auch nachher durch Alkoholbehandlung die Kerne entfärben und eine isolirte Färbung der Schizomyceten herstellen (Gram).

Schliesslich ist noch zu bemerken, dass die Tuberkel-Bacillen bei Anwendung dieser Methode niemals gefärbt werden; sie unterscheiden sich hierdurch von allen anderen, bekannten Formen der Spaltpilze.

Dass nicht sämmtliche Schizomyceten auf alle basischen Anilinfarbstoffe gleichartig reagiren, ist von vorn herein klar; am grössten sind die Verschiedenheiten, soweit bisher bekannt, bei den kapseltragenden Bacterien der Pneumonie. Indessen ist anzunehmen, dass bei fortgesetzten Unter-

---

[1]) Bei eiweissfreien Flüssigkeiten kann die Erhitzung ganz wegbleiben; stark eiweisshaltige Flüssigkeitsschichten dagegen pflegen, wenn sie nur angetrocknet und dann mit Färbelösungen behandelt werden, leicht anzuquellen und sich theilweise abzulösen; deswegen schickt man bei diesen die Erhitzung der angetrockneten Eiweisskörper voraus.

suchungen auch andere Schizomyceten bestimmte, specifische Reactionen nach dieser Richtung hin erkennen lassen werden.

I. Blut.

Die Untersuchung des Blutes ist nach den angeführten Prinzipien leicht zu machen; ein Tröpfchen Blut, sei es aus einer grösseren Blutentleerung, sei es aus einem Nadelstich, wird sauber aufgefangen und eingedeckt; man muss dringend beachten, dass die Schicht nur äusserst dünn sein darf, so dass immer nur eine Schicht rother Blutkörperchen vorliegt. Bei dem Auffangen des Tröpfchens aus der Stichwunde (Fingerkuppe, Ohrläppchen) muss die Haut vorher sorgfältig gereinigt und getrocknet, die anzuwendende Nadel oder Lanzette unmittelbar vorher geglüht werden; trotzdem muss man darauf gefasst sein, einige Verunreinigungen, wenn auch nur Hornplatten etc., vorzufinden. Man bringt das mit einer Pincette gefasste Deckplättchen an den frisch hervorquellenden Blutstropfen; das Deckgläschen wird dann mit dem daranhängenden Tröpfchen, das höchstens die Grösse eines kleinen Stecknadelkopfes haben darf, leise auf das Objektglas gelegt, so dass das Blut zwischen beiden Gläsern in dünnster Schicht vertheilt wird. Ist die Schicht dünn genug ausgebreitet, so erkennt man sofort zwischen den scheibenförmigen rothen Blutkörperchen das helle, durchsichtige Plasma und die im normalen Blut bekanntlich sehr spärlichen, weissen Blutzellen.

Ausserdem finden sich schon in der Norm im Blute verschieden reichliche, kleine Körnchen, unregelmässig gestaltet, die als Elementarkörnchen oder Zerfallskörper bezeichnet werden; über ihre Bedeutung wird noch gestritten. Wahrscheinlich verbergen sich unter ihnen Elemente von ganz verschiedenem Werthe; die neuerdings von Bizzozero beschriebenen „Blutplättchen“ (vgl. S. 146) sind bisher ebenfalls als indifferente Zerfallskörper angesehen worden. Hayem bezeichnet sie als Hämatoblasten, also Elemente, aus denen rothe Blutkörperchen entstehen sollen; höchst wahrscheinlich mit Unrecht. Ihre Praeexistenz ist von Löwit mit Unrecht bestritten worden gegen Eberth und Schimmelbusch. Laker hat ihr Vorkommen im strömenden Blut neuerdings bestätigt. Die Menge dieser Körper ist zum grossen Theil wegen ihrer Kleinheit nicht mit Genauigkeit festzustellen. Von Lostorfer und Stricker wurden sie einmal für charakteristische Elemente des Blutes bei Syphilis angesehen und „Syphiliskörperchen“ benannt; sie finden sich aber bei jedem gesunden Individuum.

Nach einiger Zeit scheidet sich auch das Fibrin in Gestalt feiner Nädelchen und Fädchen ab.

Destillirtes Wasser, ebenso wie Säuren und Alkalien, machen die rothen Blutkörper aufquellen und erblassen; das Hämoglobin wird schnell

ausgezogen, so dass die rothen Blutkörper fast vollständig verschwinden. Um sie in ihrer natürlichen Form möglichst zu erhalten, muss man Salzlösungen von bestimmter Concentration, sogen. indifferente Zusatzflüssigkeiten, verwenden, z. B. Chlornatriumlösung von 0,75—1,0 pCt. etc.; concentrirtere Salzlösungen erhalten die Blutkörperchen ebenfalls, aber mit wesentlicher Alteration ihrer Form und Grösse, sie machen die Blutkörper schrumpfen.

Für pathologische Blutuntersuchungen ist es jedenfalls gerathen, das Blut unverdünnt, direct zu betrachten.

Zählung der Blutkörper.

Um die Blutkörper zählen zu können, ist es nöthig, das Blut zu verdünnen. Zu diesem Zweck hat man verschiedene Mischungen in Vorschlag gebracht.

Die Flüssigkeit von Malassez:

Lösung von arab. Gummi	1 Vol.
Lösung von Natriumsulfat und Chlornatrium .	3 Vol.

Beides von der Dichtigkeit 1020. In dieser Lösung treten die farblosen Blutkörper nicht deutlich genug hervor und gegen die rothen Blutkörper ist sie nicht indifferent.

Hayem gebraucht folgende Flüssigkeit:

Hydragyr. bichlor. corros.	0,5
Natr. sulf.	5,0
Natr. chlorat.	2,0
Aq. destill.	200,0

Sie hat den gleichen Nachtheil wie die Flüssigkeit von Malassez:

Mosso's Methode: Verdünnung des Blutes in 1procentiger Osmiumsäure conservirt wohl gut die Elemente, lässt aber die farblosen Zellen nicht hinreichend hervortreten. Sie empfiehlt sich darum mehr für Zählung der rothen Blutkörper.

Will man nur die weissen Blutkörper zählen, ist die Methode von Thoma, Verdünnung mit $^1/_3$procentiger Essigsäure, die beste. Sie löst die rothen Blutkörper, während die weissen mit ihren Kernen aufs Deutlichste hervortreten.

Das geeignetste Verfahren, die beiden Elemente des Blutes zugleich zählen zu können, ist das von Toison.[1])

Zur Verdünnung dient folgende Mischung:

Destill Wasser	160 ccm.
Neutrales Glycerin zu 30°	30 ccm.
Natriumsulfat pur. . . .	8 gr.

---

[1]) Toison. Sur la numeration des Eléments du sang. Journ. des Sciences med. de Lille. 1885. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. 1885.

Chlornatrium . . . . . 1 gr.
Methylviolett 5 B . . . 0,025 gr.

Sowohl die rothen wie die farblosen Blutkörper treten gleich deutlich hervor.

Man nimmt am einfachsten die Verdünnung mit dem Melangeur von Potain vor. Dieser Apparat ist eine Art Pipette mit einer kleinen ampullenförmigen Anschwellung, welche ein kleines Glaskügelchen enthält; das eine Ende der Pipette ist zugespitzt, an das andere ist ein Kautschuckschlauch befestigt. Die Ampulle hat eine Capacität, welche das 100fache derjenigen der übrigen Röhre beträgt. Man zieht in die Röhre mit Hilfe des Kautschuckschlauchs Blut ein bis zum Beginn der Ampulle, darauf das 100fache dieser Menge von der Verdünnungsflüssigkeit, indem man die Ampulle damit füllt. Durch Rollen des Melangeur erzielt man eine vollkommene Mischung und erhält so eine 100 fache Verdünnung des Blutes.

Zum Zählen dient der Thoma-Zeiss'sche Zählapparat.

Er besteht aus einer feuchten Kammer von genau bestimmter Tiefe (0,10 mm.), auf deren Boden sich eine Netztheilung von 400 Quadraten mit je $^1/_{400}$ qmm. Flächeninhalt befindet. Der Kubikinhalt der über einem solchen Quadrat stehenden Flüssigkeit beträgt $^1/_{4000}$ cmm.

Die Zählung wird bei schwacher Vergrösserung vorgenommen. Nicht nur die in den Feldern, sondern auch die auf den Grenzen der Felder gelegenen Körperchen werden gezählt.

Die Berechnung geschieht nach folgender Formel:

$$\frac{4000\ a\ z}{n}$$

a entspricht der Verdünnung des Blutes, z der Zahl der Blutkörper und n der Zahl der Felder, deren Blutkörper gezählt werden.

Es sei z. B. die Verdünnung des Blutes eine 100fache,
die Zahl der Blutkörper 1200,
die Zahl der Felder 150,
so erhalten wir für ein Cubikmillimeter nicht verdünnten Blutes

$$\frac{4000 \cdot 100 \cdot 1200}{150} = 3{,}200{,}000 \text{ Körper.}$$

Mit den verbesserten Zählmethoden hat H. Reinecke auf meine Veranlassung eine grössere Untersuchungreihe an sich ausgeführt und festgestellt, dass bei gleichmässiger Lebensweise kein wesentlicher Unterschied in der Zahl der weissen Blutkörper in den verschiedenen Tageszeiten besteht. Das numerische Verhältniss der weissen zu den rothen hat er allerdings etwas anders gefunden, als bisher angenommen wurde, nämlich 1 : 720, doch sind Verhältnisse von 1 : 500 und 1 : 1000 noch als normal zu betrachten. Für den Cubikmillimeter Blut ergeben sich 7100—7300 farblose Elemente.

Von den rothen Blutkörpern kommen etwas mehr als 5 Millionen auf einen cmm. Blut. Die Zahl derselben kann in schweren Fällen von Anämie bis 500 000, ja bis 143 000 sinken (Quincke).

Trockenpräparate. Ehrlich'sche Methode.[1])

Man benutzt zu diesem Zwecke Deckgläschen von geringer Dicke (0,1—0,12 mm.), die mit absolutem Alkohol gereinigt und hierauf noch kurz durch die Flamme gezogen werden.

Man bringt das mit einer Pincette gefasste Deckgläschen an den frisch hervorquellenden Blutstropfen (Fingerkuppe, Ohrläppchen), der nicht zu gross sein darf, und legt es auf ein zweites in der linken Hand bereit gehaltenes Deckgläschen. Sobald das sich gleichmässig vertheilende Blutquantum die Ränder der Deckgläschen erreicht hat, zieht man dieselben vorsichtig und gleichmässig auseinander. Die so hergestellten Präparate lässt man zunächst vollkommen lufttrocken werden. Da nun solche Präparate zum genauen Studium der Formelemente und ihres Inhaltes wenig geeignet sind, weil das Haemoglobin von der Mehrzahl der üblichen Färbungsmenstruen extrahirt wird, so erhitzt Ehrlich[2]) die mit der lufttrockenen Blutschicht bedeckten Deckgläschen auf einer 40 cm. langen und 10 cm. breiten Kupferplatte, die an einem Ende durch eine Gasflamme erwärmt wird, eine oder zwei Stunden bei 120—130° C.

Anmerkung: Zur vorläufigen Orientirung genügt es in vielen Fällen, das lufttrockene Präparat sechs- bis zehnmal durch die Flamme zu ziehen.

Durch diese Behandlung wird das Haemoglobin in den rothen Blutkörperchen fixirt, ohne sein elektives Färbungsvermögen verloren zu haben.

Zur Färbung der so vorbereiteten Präparate hat Ehrlich verschiedene Farbmischungen angegeben.

Für einfache Verhältnisse (Darstellung eosinophiler Granulationen oder kernhaltiger, rother Blutkörperchen) genügt folgende Lösung:

Eosin cryst. . .	0,5
Haematoxylin . .	2,0
Alkohol absol.	
Aq. destill.	
Glycerin aa. . .	100,0
Acid. acet. glac. .	10,0
Alaun im Ueberschuss.	

Man lässt diese Mischung 3 Wochen im Licht stehen, alsdann färbt

---

[1]) Die Ehrlich'sche Methode der Blutuntersuchung hat Herr Dr. Gollasch in Berlin verfasst.

[2]) Zeitschrift für klin. Medizin. Bd. I. Heft 3.

die Lösung in wenigen Stunden. Die Präparate werden mit Wasser sorgfältig abgespült und in Canadabalsam untersucht. Sämmtliche Kerne sind nun schwarz gefärbt, während die sog. eosinophilen Granulationen (siehe unten) eine purpurrothe Farbe angenommen haben.

Später hat Ehrlich[1]) vornehmlich zur Darstellung der neutrophilen Granulationen eine andere Farbmischung angegeben: 125 ccm. einer gesättigten, wässerigen Orange G-Lösung werden mit dem gleichen Volumen einer 20 pCt. Alkohol enthaltenden, concentrirten Säurefuchsin-Lösung versetzt, dazu fügt man unter allmäligem Umschütteln 125 ccm. einer concentrirten, wässerigen Methylgrünlösung und 75 ccm. Alkohol. absol.

Diese Lösung bleibt mehrere Wochen stehen, bis der sich bildende Niederschlag vollständig zu Boden gesunken ist. Da die Mischung nicht filtrirt werden darf, so entnimmt man mit einer trockenen Pipette aus der Mitte der Flüssigkeit das erforderliche Quantum und lässt es einige Minuten auf das Präparat einwirken. Die Lösung überfärbt nicht, und man kann darum Blutpräparate beliebig lange Zeit darin belassen.

Hierauf wird das Präparat in Wasser abgespült und in der üblichen Weise untersucht. Das Haemoglobin erscheint dann orangegelb, die Kerne grünlich, die neutrophile Körnung (siehe weiter unten) violett, die sogen. eosinophile Körnung dunkelgrau mit einem Stich ins Blaue.

Bevor wir zu den pathologischen Veränderungen des Blutes übergehen, ist es zweckmässig, die im normalen Blute vorhandenen Formen resp. Abstufungen der weissen Blutkörperchen, soweit sie durch das oben erwähnte Färbungsverfahren klar zu Tage treten, hier kurz aufzuzählen.

Weisse Blutkörper.

Es kommen im normalen Blute folgende Formen der weissen Elemente vor:

1. Kleine Lymphocyten,
2. Grosse Lymphocyten,
3. Mononucleäre Uebergangsformen,
4. Polynucleäre Leukocyten,
5. Eosinophile Zellen.

1. Kleine Lymphocyten. Es sind dies Formen, die den rothen Blutkörperchen an Grösse ungefähr gleichkommen mit einem relativ grossen, intensiv tingirbaren Kern, um welchen das Protoplasma als schwacher, kreisförmiger Saum gelagert ist.

2. Grosse Lymphocyten, deren Durchmesser mindestens 2 mal so gross ist, als der eines rothen Blutkörperchens, mit einem ebenfalls

[1]) Charité-Annalen, 1884. pag. 107.

grossen, jedoch schwächer tingirbaren Kern und einem im Vergleich zu No. 1 breiteren Protoplasma.

Diese beiden Formen, von denen die letztere nur ein weiteres Entwickelungsstadium der ersteren darstellt, entstehen, wie dies Virchow nachgewiesen hat, in den Lymphdrüsen. Aus dem grossen Lymphocyten bildet sich im weiteren Entwickelungsstadium

3. die mononucleäre Uebergangsform[1]), deren Kern zumeist in der Mitte eine Einbuchtung hat, und die entsprechend dem weiteren Fortschreiten der Kernumbildung die ersten Spuren der sog. neutrophilen Granulation im Protoplasma zeigt. Dieses Stadium geht in

4. den polynucleären Leukocyten über, der eine polymorphe Kernfigur oder mehrere kleine, stark färbbare Kerne führt und durch zahlreiche Granulationen charakterisirt ist. Letztere sind nur in neutralen[2]) Farbstoffen tingibel. Ein solcher neutraler Farbstoff entsteht in der oben angeführten Mischung durch den Zusammentritt einer Farbsäure (Säurefuchsin) mit einer Farbbase (Methylgrün). Diese von Ehrlich als polynucleäre, neutrophile Leukocyten bezeichneten Elemente sind von wechselnder Grösse, jedoch grösser als die rothen Zellen und meist kleiner als die grossen mononucleären. Sie machen circa 70 pCt. aller weissen Elemente des Blutes aus (Ehrlich, Einhorn) und besitzen die Fähigkeit, bei Eiterungen das Gefässgebiet zu verlassen.

5. Als letztes Element kommen die eosinophilen Zellen[3]) in Betracht. Es sind dies weisse Blutzellen, deren Leib durch die in sauren Farbstoffen (Eosin) sich leicht färbenden, micrococcenähnlichen Granulationen kenntlich ist. Letztere erscheinen dann purpurroth, während die Kerne, deren Zahl meist zwei oder drei ist, sich weniger dunkel (siehe oben) färben als die der polynucleären Leukocyten.

Anmerkung: Platzt eine solche eosinophile Zelle beim Ausstreichen des zu untersuchenden Blutes, so kann die frei gewordene Granulation leicht Micrococcenhaufen vortäuschen, wie dies aus früheren Blutuntersuchungen verschiedener Forscher hervorgeht. Färbt man jedoch ein solches Präparat mit concentr. Eosin-Glycerinlösung ca. 1 Stunde und nachträglich mit wässriger Methylenblaulösung 5—10 Minuten, so halten die Granulationen das Eosin fest, während die etwa vorhandenen Micrococcen das Methylenblau angenommen haben.

Vermehrung der Zahl der weissen Blutkörper. Leukocytose und Leukämie.

Bei der Leukocytose, die wieder rückgängig werden kann, kommt eine Vermehrung der weissen Blutkörper bis auf 1 : 50 und darüber vor;

[1]) Spilling, Blutuntersuchungen bei Leukämie. Inaug.-Diss. Berlin. 1880.

[2]) Zeitschrift für klin. Medizin. Bd. I. Heft 3.

[3]) Ehrlich, Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin. 1878—79. No. 20. Schwarze, Ueber eosinophile Zellen. Dissert. Berlin. 1880.

bei der Leukämie, die in der Regel eine dauernde, nothwendig zum Tode führende Erkrankung darstellt, steigt das Verhältniss in den schwersten Fällen so weit, dass die weissen Blutkörper an Zahl die rothen übertreffen. Dabei ist dann auch die absolute Zahl der rothen Blutkörper sehr erheblich vermindert; für exacte Feststellung dieser Verhältnisse ist der Zählapparat erforderlich.

Da viele Bluterkrankungen sich zunächst durch Verschiebung des Verhältnisses der weissen Elemente unter einander dem Mikroskopiker kund thun, so erscheint es wichtig, das Procentverhältniss der oben angeführten, weissen Elemente zu ihrer Gesammtsumme festzustellen. Nach Zählungen an Trockenpräparaten, Ehrlich und Einhorn[1]), betragen die Lymphocyten ca. 25 pCt. sämmtlicher weissen Blutkörperchen, die polynucleären 65—70 pCt., der Rest entfällt auf die eosionophilen L. und die Uebergangsformen.

Hält man die oben beschriebenen Formen der corpusculären Elemente des Blutes streng auseinander, so wird man unschwer die Diagnose einer Bluterkrankung stellen können. Man wird zunächst einen strengen Unterschied zwischen Leukocytose und Leukämie durchführen können, was bisher in bestimmter Form noch nicht geschehen ist.

Unter Leukocytose versteht man eine einseitige Vermehrung der polynucleären Leukocyten oder solcher (weisser) Elemente, die schon im normalen Blute vorhanden sind. Dieser Zustand findet sich bei Erysipel, Typhus, Scharlach etc. und schwindet gleichzeitig mit der Krankheitsursache, ferner bei kachektischen Zuständen (Carcinom etc). Dagegen ist die myelogene oder lienal-medullare Leukämie, die am häufigsten zur klinischen Beobachtung kommt, sowohl durch eine Vermehrung der im normalen Blute vorhandenen „eosinophilen" Leukocyten charakterisirt, als ganz besonders durch das massenhafte Auftreten solcher weisser und rother Elemente, die im normalen Blute niemals vorkommen.[2])

Es sind dies zunächst die bei myelogener Leukämie von Ehrlich constant nachgewiesenen, mononucleären Zellen. Dieselben sind bedeutend grösser als die einkernigen Leukocyten im normalen Blute und sind ausserdem auf das Dichteste von der neutrophilen Körnung erfüllt, während jene (conf. No. 2 p. 159) stets frei davon sind. Diese Gebilde, die stets in grosser Menge auftreten, fand E. nur im Knochenmark von Leukämikern und sind mithin diese „Myelocyten" als charakteristich für Leukämie zu bezeichnen. Ausserdem findet man bei dieser Form von Leukämie constant kernhaltige, rothe Blutkörperchen, deren Vorkommen

[1]) Einhorn, Ueber das Verhalten der Lymphocyten zu den weissen Blutkörperchen. Dissertation. Berlin, 1884.

[2]) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschrift. 1883. No. 46.

zuerst von Klebs, Böttcher, Eberth, Neumann beobachtet wurde, und die auch Ehrlich in jedem der von ihm untersuchten Fälle von myelogener Leukämie nachweisen konnte. Man findet in solchen Fällen kernhaltige sowohl von normalem Typus (Normoblasten), als auch Megaloblasten, die bedeutend grösser sind.

Die seltenere Form der lymphatischen Leukämie, auf die zuerst Virchow aufmerksam gemacht hat, zeichnet sich durch einseitige Vermehrung der Lymphocyten aus; im Uebrigen deckt sich diese Form in den meisten Fällen mit dem Symptomencomplex des malignen Lymphoms.

Veränderungen der Grösse und Gestalt der rothen Blutkörperchen.

Poikilocytose. Essentielle Anämie.

Dass auch die Grösse der rothen Blutkörperchen im normalen Blute zwischen engen Grenzen schwankt, davon kann man sich an einem nach den oben angeführten Regeln hergestellten Trockenpräparat überzeugen. Will man etwaige im Kreislauf präformirte Gestaltsveränderungen der zelligen Elemente constatiren, so dürfte es sich empfehlen, den aus einer kleinen Stichwunde eben hervorquellenden Tropfen schnell zwischen zwei Deckgläschen zu vertheilen und in Flemming'sche Lösung gleiten zu lassen. Auf diese Weise gelingt es bei einiger Uebung, das Blut in 5 bis 6 Sekunden nach dem Austritt zu fixiren.

Deutliche Gestalts- und Grössenveränderungen der rothen Blutkörperchen kommen zunächst bei der essentiellen oder perniciösen Anämie vor. Hier findet man neben einer mehr oder weniger stark ausgesprochenen Poikilocytose (Biskuit-, Birn- oder Hantelform, Quincke) Megaloblasten mit Kern (Ehrlich), d. h. rothe Gebilde, die zumeist zwei- bis dreimal so gross sind, als ein normales, rothes Körperchen und die einen centralen oder wandständigen, leicht färbbaren Kern aufweisen. Ehrlich[1]) hat dieselben in mehreren Dutzend Fällen von perniciöser Anämie constant nachweisen können, und sie sind somit für die Diagnose dieser Krankheit von grosser Bedeutung.

Weniger ausgesprochen sind die Grössenveränderungen der rothen Körperchen bei secundären Anämieen, dagegen sind auch hier, besonders bei schweren, traumatischen Anämieen, kernhaltige rothe von normoblastischem Typus in spärlicher Anzahl beobachtet worden.

Im anämischen Blute findet man häufig Degenerationsformen von rothen Blutscheiben. An Trockenpräparaten, die erhitzt und mit essigsaurer Eosin-Hämatoxylinlösung gefärbt sind, zeigen normale Blut-

[1]) Berliner klin. Wochenschrift 1880 No. 28 und 1881 No. 3.

körperchen eine intensiv reine Orangefärbung, während die Degenerationsformen durch einen Stich ins Rothviolette oder rein Violette kenntlich sind. —

Anderweitige im Blute vorkommende, zellige Elemente. Würmer und Schizomyceten im Blut.

Bei Ileotyphus sind grössere Zellen im Blute gefunden worden, die mehrere rothe Blutkörperchen in ihrem Innern enthielten (Eichhorst); höchst wahrscheinlich stammten dieselben aus der Milz, da wir bei den Autopsien in dem typhösen Milztumor ganz ähnliche Gebilde, blutkörperchenhaltige Zellen, regelmässig in Menge antreffen. Auch platte, mit reichlichen Fetttropfen versehene Zellen sind bei acuten Infectionskrankheiten, besonders bei Recurrens, öfter im Blute gefunden worden; sie werden als Gefässendothelien angesehen.

Zellen, die mit schwarzen Pigmentkörnern und -Schollen versehen sind, sowie freie Pigmentmassen finden sich im Blute bei schwerer Malariainfection: Melanämie.

Geschwulstelemente, welche in Fällen von bösartiger, metastasirender Tumorbildung im Blute circuliren, wird man bei Untersuchung von Capillarblut, wie man es durch einen Nadelstich oder einen Schröpfkopf erhält, wohl kaum zu erwarten haben; gewöhnlich sind dieselben nur dann charakteristisch, wenn sie erhebliche Dimensionen haben, und können dann die engen Capillaren nicht passiren.

Von thierischen Parasiten kommen Filaria sanguinis und Distoma haematobium im Blute des Menschen vor, beide nur in tropischen (oder subtropischen) Gegenden.

Schizomyceten im Blute des lebenden Menschen sind bis jetzt nur in zwei Krankheiten regelmässig gefunden worden, der Bacillus anthracis (Davaine) bei Milzbrand und die Spirochaeta Obermeyeri bei Febris recurrens. Einige Male wurden Tuberkelbacillen bei miliarer Tuberkulose und Typhusbacillen (Almquist) gefunden. Marchiafava und Celli haben während des Fieberanfalls das Plasmodium Malariae constant nachgewiesen. Man untersucht das Blut direkt ohne jeden Zusatz in sehr dünner Schicht, oder man macht Trockenpräparate, die man in der oben beschriebenen Weise erhitzt und mit Gentianaviolett oder Methylenblau etc. färbt. Die Milzbrandbacillen sind schlanke Stäbchen, unbeweglich, gegen die meisten Reagentien restistent; die Recurrensspirillen dagegen sehr lebhaft beweglich und durch die meisten Zusatzflüssigkeiten, schon durch destillirtes Wasser leicht zerstörbar. Das Vorkommen der Spirillen ist bekanntlich auf die fieberhafte Periode der Krankheit beschränkt; nur ganz selten finden sie sich noch kurze Zeit nach dem Fieberanfall. Dagegen fehlen sie in der Fieberzeit niemals, sind demnach als ein sicheres

diagnostisches Kriterium für diese Krankheit zu betrachten. Allerdings sind sie manchmal, selbst bei nicht ganz leichten Fällen, nur in geringer Anzahl vorhanden und können bei flüchtiger Untersuchung wohl auch übersehen werden. Für solche Fälle ist es anzurathen, wenn es diagnostisch wichtig erscheint, einige Gramm Blut durch einen Schröpfkopf zu entnehmen und coaguliren zu lassen. Die Spirillen pflegen sich dann allmälig an den Randtheilen der Gerinnsel zu sammeln, oft in grossen Gruppen, zu 20 und darüber, selbst in Knäuel geballt oder in Form eines Rattenkönigs mit einander verbunden. Da sie ihre lebhaften, flimmernden Bewegungen stundenlang, ja Tage lang ausserhalb des Organismus bei Zimmertemperatur bewahren [1]), so erregen sie, in Gruppen zusammengelagert, Flüssigkeitsströmungen, so dass man oft schon bei schwacher Vergrösserung auf sie aufmerksam gemacht wird. Zu ihrer genaueren Untersuchung ist dann eine Vergrösserung von 300—400 erforderlich. Die Entwickelungsgeschichte der Spirillen ist noch unbekannt; ob die angeblich beweglichen, kleinen Körperchen und Doppelkörnchen, die man im Recurrensblut ebenso wie im Blute bei anderen Infectionskrankheiten, zuweilen selbst im normalen Blut gesehen und als „Micrococcen“ oder Sporen angesprochen hat, wirklich als solche betrachtet werden dürfen, ist noch zweifelhaft. S. Nachweis der Schizomyceten, des Bacillus der Tuberkulose und des Typhus.

Die Angaben über das Vorkommen von Microorganismen im normalen Blut sind durchaus nicht vertrauenswürdig; auch die meisten Mittheilungen über sogen. Micrococcen, Monaden, sowie von Stäbchen im Blute bei verschiedenen Infectionskrankheiten: Diphtheritis, Hospitalbrand, Erysipel etc., sowie bei Intermittens sind nicht hinlänglich verbürgt. Selbst bei Pyämie und bei Endocarditis ulcerosa lässt die Untersuchung des Blutes beim Lebenden gewöhnlich keine Organismen nachweisen, während post mortem die Capillaren an vielen Stellen mit Micrococcen vollgestopft gefunden werden. Es wäre nicht undenkbar, dass in solchen Fällen die Organismen schubweise in das Blut gelangen, vielleicht immer nur in geringer Menge, und dann sehr bald in den Capillaren hängen bleiben, wo sie sich unter Umständen rapide vermehren können.

Bei croupöser Pneumonie fand Orthenberger in den Lungencapillaren, Lungenarterien, Blutgefässen der Leber und Niere (in der Leiche) den Fränkel'schen Pneumoniecoccus z. B. combinirt mit Streptococcus pneumon. und Staphylococcus.

Da die Spaltpilze, welche bei den verschiedenen Formen der mycotischen Endocarditis vorkommen, auch im Blute angetroffen werden, dürfte es am Platze sein, dieselben hier zu erwähnen.

Bei der ulcerösen Endocarditis wurden gefunden am häufigsten der Diplococcus der Pneumonie, der Staphylococcus pyog. aureus. und Strepto-

[1]) Nach Albrecht vermehren sie sich auch ausserhalb des Organismus.

coccus pyog. Seltener war der Staphylococcus pyog. alb., der Bacillus endocarditis griseus und ein nicht cultivirbarer Bacillus.

Bei der verrucösen Endocarditis war am häufigsten der Staphylococcus pyog. aur. und Streptococc. pyog., seltener der Diplococc. der Pneunomie, Staphylococcus pyog. alb., Bacillus foetidus, Bacillus capsulatus der Endocarditis.

Die einige Mal in Klappenexcrescenzen Tuberkulöser gefundenen Tuberkelbacillen sind nicht als die Ursache der Endocarditis zu betrachten, sondern erst nach der Bildung der Klappenthromben in die oberflächlichsten Partien dieser gelangt.[1])

Untersuchung von Blutflecken. Hämincrystalle. Hämatoidin.

Auf Holz, Leinwand, Metallinstrumenten etc. eingetrocknetes Blut wird häufig der Gegenstand gerichtsärztlicher Untersuchung.

Es gelingt sehr oft durch Aufweichen in geeigneten Flüssigkeiten — besonders Kochsalzlösung von 0,8 pCt. und Kalilauge 33 pCt. —, Blutkörper aus solchen Blutflecken zu isoliren, oft ist sogar ihre Form und Grösse noch einigermassen gut erhalten.

Da nun bekanntlich das Blut des Menschen und der Säugethiere durch kreisrunde Form der rothen Blutkörperchen charakterisirt ist, während die anderen Wirbelthiere ovale Blutkörper haben, so kann man noch am eingetrockneten Blut gewöhnlich mit voller Sicherheit entscheiden, ob es von einem Säugethiere (einschliesslich des Menschen) oder etwa einem Vogel etc. herrührt. Weiter geht aber unsere Kunst nicht; es ist nicht möglich, die Blutkörperchen mit Sicherheit als menschliche zu diagnosticiren. Die meisten Säugethiere haben allerdings etwas kleinere Blutkörperchen als der Mensch; Schaf- und Ziegenblutkörperchen sind im Mittel nur wenig über halb so gross wie menschliche; andere Thiere, z. B. der Hund, nähern sich dagegen in dieser Beziehung sehr dem Menschen. Jedenfalls thut man gut, bei der Beurtheilung von Blutflecken nicht weiter zu gehen, als gegebenen Falls zu erklären, dass es sich um Säugethierblut handelt; die Grössenverhältnisse sind bei der Verschiedenheit des Eintrocknungsmodus und bei der Verschiedenheit des Anquellens in der benutzten Zusatzflüssigkeit je nach dem Alter des Flecks etc., nicht absolut sicher zu verwerthen.

Ausserdem erhält man von trockenen Blutflecken die sogen. Teichmann'schen Häminkrystalle; dieselben bestehen aus salzsaurem Hämatin und werden folgendermassen hergestellt: Zu einer kleinen Partie des eingetrockneten Blutes, z. B. zu einem damit imprägnirten Faden,

---

[1]) Weichselbaum, Beiträge zur Aetiologie und patholog. Anatomie der Endocarditis. Ziegler's Beiträge zur pathol. Anatomie. IV. Bd. 1889.

werden auf dem Objektträger einige Tropfen Eisessig zugesetzt, ausserdem ein Körnchen Kochsalz; der Objektträger wird dann allmälig erwärmt, bis Blasenbildung beginnt. Dann sieht man um den Faden herum bei mikroskopischer Betrachtung eine grosse Zahl von rhombischen, dunkelbraunen Krystallen auftreten, die in Wasser vollständig unlöslich und exquisit doppeltbrechend sind. Diese Probe ergiebt noch bei ganz alten Blutflecken positive Resultate; es ist selbstverständlich, dass dieselbe bei jeder Blutsorte anwendbar ist. Oft ist es nothwendig, den zweifelhaften Fleck zuerst mit Wasser auszuziehen und mit dem eingedampften Extrakt weiter zu manipuliren. Zusatz von Kochsalz zu dem Auszug ist bei etwas grösserem Material nicht absolut nöthig.

Von diesen künstlich hergestellten unterscheiden sich die Hämatoidinkrystalle, welche ebenfalls in rhombischer Form in älteren Blutextravasaten, in den gelben Körpern der Ovarien etc., theils frei, theils im Innern von Zellen eingeschlossen gefunden werden. Sie sind von lebhaft rubinrother oder orangerother Färbung und enthalten kein Eisen; sie lösen sich in Chloroform und haben die grösste Aehnlichkeit mit dem Bilirubin, von vielen Seiten werden sie sogar als identisch mit Bilirubin angesehen.

Die Hämoglobin-Krystalle kommen, so viel bis jetzt bekannt, beim Menschen in natürlichem Zustande nicht vor (während sie u. A. beim Meerschweinchen im Uterus post partum in Masse gefunden werden); man kann sie auf verschiedene Weise darstellen, z. B. durch Einwirkung von concentrirter Pyrogallussäurelösung auf Blut, das vorher mit destillirtem Wasser verdünnt worden ist.

Für den Nachweis des Fibrins leistet Weigert's Färbungsmethode (s. Färbung S. 121) mit Anilinwasser-Gentianaviolett vorzügliche Dienste. Hat man die Schnitte in einer Schale gefärbt, so werden dieselben einzeln in Kochsalzlösung abgespült, auf den Objektträger gebracht, abgetrocknet und dann mit Jodlösung behandelt. Darauf Abtrocknung und Auftropfen einer Mischung von Anilinöl und Xylol (2 : 1). Wiederholung dieser Procedur, Entfernen des Anilinöls mit Xylol. Für Doppelfärbung empfiehlt sich Vorfärbung mit reinem Carmin. Celloidin braucht nicht entfernt zu werden. Fibrin und seine hyalinen Derivate (hyaline Massen in Capillaren bei Infarkten) erscheinen blau, Blutplättchen dagegen werden nicht gefärbt. Bei kurzer Einwirkung des Anilinöls erscheinen auch einige Kerne und Bindegewebsbündel blau.

2. Sputa.

Die mikroskopische Untersuchung der Sputa ist von sehr hoher diagnostischer Bedeutung und wird deshalb ausserordentlich häufig vorgenommen. Die Technik dieser Untersuchung ist sehr einfach; zunächst

wird makroskopisch festgestellt, was für Substanzen in dem Sputum unterschieden werden können, das ja stets ein Gemenge aus mehrerlei Stoffen darstellt, die auch von verschiedenen Orten herstammen. Besonders hat man dabei auf undurchsichtige, weisse oder grauweisse Pfröpfe zu achten, die am besten hervortreten, wenn das Sputum in dünner Schicht auf einen schwarz angestrichenen Porzellanteller ausgegossen wird, gerade in diesen Pfröpfchen findet man meist die elastischen Fasern, auf die man fahndet; sie sind dann als abgelöste Stückchen einer Cavernenwand aufzufassen. Auch die von Leyden sogenannten Asthma-Krystalle finden sich gewöhnlich im Innern von etwa hirsekorngrossen, grünlichweissen Pfröpfchen, die schon mit blossem Auge in der sonst hellen Substanz des Sputums zu unterscheiden sind und zwar auch bei einfachen Katarrhen. Ebenso, wenn man Grund hat, auf Echinococcen oder sonstige seltenere Beimengungen zu fahnden, kurz, in jedem Fall muss eine genaue, makroskopische Untersuchung vorangehen; eine Vernachlässigung dieser Vorschrift führt oft genug Misserfolge und negative Resultate nach sich. Von allen diesen verschiedenen, oft schichtenweise über einander sich lagernden Partien werden dann mikroskopische Präparate gemacht, indem man ein Stück der schleimigen Substanz mit Nadel und Spatel auf den Objektträger bringt und mit dem Deckglase bedeckt. Nur selten wird eine Zusatzflüssigkeit zur Verdünnung nothwendig werden, man benutzt Kochsalzlösung oder destillirtes Wasser. Die mikroskopische Untersuchung geschieht nun so, dass man mit schwacher, etwa 50—80maliger Vergrösserung beginnt und erst, nachdem man das ganze Präparat bei dieser Vergrösserung kennen gelernt hat, zu der stärkeren Linse übergeht. Die elastischen Fasern sind gewöhnlich schon bei schwacher Vergrösserung einigermassen kenntlich, entweder direkt oder durch die etwas dunklere, krümlige Substanz, in die sie eingebettet sind; da die schwache Vergrösserung ein entsprechend grösseres Gesichtsfeld darbietet, so hat man viel mehr Chancen, sie mit schwacher, als mit starker Vergrösserung zu finden. Dazu kommt, dass die schwache Vergrösserung in Bezug auf kleine Differenzen des Focalabstandes nicht so empfindlich ist, in Folge dessen also die Untersuchung mehrerer über einander liegender Schichten des Präparates zu gleicher Zeit gestattet.

Die mit der schwachen Vergrösserung als different aufgefassten Partien des Präparats werden dann mit der starken Linse näher analysirt; erst dann wird die mikroskopische Diagnose gestellt.

a. Mundflüssigkeiten.

Bei der Untersuchung der Sputa wird man fast stets auf Verunreinigungen der verschiedensten Art stossen. Niemals wird man erwarten dürfen, den Inhalt des Bronchialbaumes rein vor sich zu haben; mindestens

sind stets die Secrete des Mundes, der Speicheldrüsen und des Rachens mit beigemengt. Man muss demnach diese genau kennen lernen.

In den Mundflüssigkeiten finden sich normaler Weise stets reichliche Epithelien der Mund- und Rachenschleimhaut, meist in mehr oder minder vorgeschrittener Verhornung; diese grossen, unregelmässig gestalteten Platten, die mit Säuren oder Alkalien zu kugeligen Blasen aufquellen, lernt man sehr bald kennen, meist sind sie mit reichlichen Schizomyceten besetzt. Bei katarrhalischen Zuständen der Mund- und Rachenschleimhaut kommen auch lebende Epithelien in der Mundflüssigkeit vor, welche buckelförmige Fortsätze treiben und schwache, amöboide Bewegungen machen.

Oft werden auch bei Mundkatarrh die oberen Schichten der Epithelzellen in continuo abgestossen, besonders reichlich finden sich im Zungenbelag bei solchen Individuen die besenartigen Spitzen der Papillae filiformes, die aus derb verhornten, fest aneinander haftenden Epithelzellen bestehen.

Ausserdem finden wir reichliche Rundzellen, Schleim- oder Speichelkörperchen, welche aus den Schleim- oder Speicheldrüsen und zwar besonders aus der Submaxillaris und Sublingualis, zum kleineren Theil wohl auch aus den tieferen Schichten des geschichteten Plattenepithels und den Tonsillen stammen. Ursprünglich sind es kleine amöboide Zellen, analog den Lymphkörperchen etc., sie verändern sich aber unter dem Einfluss des dünnen Parotisspeichels derart, dass sie kugelförmig anquellen und eine Grenzmembran im Gegensatz zu dem hellen Inhalt hervortreten lassen; der letztere beherbergt einen oder zwei rundliche Kerne, ausserdem eine grosse Zahl feiner Körnchen, die stets in lebhafter, tanzender Bewegung begriffen sind: Molecularbewegung in den Speichelkörperchen. Diese Körnchen sind nicht etwa, wie man vermuthet hat, parasitäre Organismen, wenigstens färben sie sich in basischen Anilinfarbstoffen niemals; ob die so lebhafte Bewegung derselben ein vitales Phänomen darstellt, etwa analog den Protoplasmaströmungen in Pflanzenzellen, ist nicht ausgemacht.

Ferner aber tummeln sich frei in den Mundflüssigkeiten reichliche Microorganismen der verschiedensten Art; steife, lange Leptothrixfäden von verschiedener Breite, kugelige Coccen verschiedener Grösse, oft in Ketten oder in compacten Haufen angeordnet, Bacillen, auch sog. Kommabacillen und sehr elegante Formen von Spirochäten, die in ihrer Gestalt und schlängelnden Bewegung den Spirillen des Recurrensblutes sehr ähnlich sind, nur gewöhnlich erheblich grössere Dimensionen als jene erreichen. (Vergl. die Abbildung Nr. VI.) Seltener wird auch Sarcine angetroffen. Je geringere Sorgfalt ein Individuum auf die Säuberung seiner Mundhöhle verwendet, in desto reicheren Massen pflegen sich die Microorganismen anzusiedeln; indessen fehlen sie selbst bei der grössten Reinlichkeit niemals vollständig, die in der Einathmungsluft stets enthaltenen

Keime der Schizomyceten finden in den Flüssigkeiten der Mundhöhle stets den günstigsten Nährboden. Eine Species derselben wurde als Ursache der Zahncaries angesehen, indessen wahrscheinlich mit Unrecht (W. Miller). Bei Uebertragung auf Thiere finden sich eine ganze Anzahl von pathogenen Spaltpilzen in der normalen, menschlichen Mundflüssigkeit.

Sprosspilze sind in den Mundflüssigkeiten nur zuweilen in grösserer Quantität vorhanden, dagegen finden wir eine Species von Fadenpilzen, den Soorpilz: Oidium albicans, sehr häufig darin; bekanntlich am häufigsten bei Kindern, die mit Milch genährt werden, und bei Erwachsenen, deren Ernährung sehr stark herabgesetzt ist, z. B. bei Phthisikern etc. Es sind verzweigte, gegliederte Fäden mit ovalen Sporen, die zwischen den Epithelzellen der obersten Schichten und auf der Oberfläche selbst ein mehr oder minder dichtes Mycelium bilden.

Ausser diesen Elementen kommen in der Mundflüssigheit oft allerhand Speisereste vegetabilischer Art vor; selbst viele Stunden lang nach der Mahlzeit behalten viele Personen in ihrer Mundhöhle, besonders zwischen den Zähnen oder in cariösen Höhlen derselben, mikroskopische Proben des Genossenen, die bei der Untersuchung des Auswurfs den Anfänger oft genug in Erstaunen und in Verlegenheit setzen.

Auch der schleimig-flüssige Inhalt der Nasenhöhle, dem oft Blut beigemischt ist, kann als Verunreinigung in dem Auswurf gefunden werden; weiterhin der Inhalt von Abscessen, die sich in die Mund- und Rachenhöhle hinein öffnen (Zahn- und Kieferabscesse, tonsillare und retropharyngeale Abscesse). Besonders zu bemerken sind in dieser Richtung die kleinen, bis über Erbsengrösse erreichenden Concremente, die sich oft in den Buchten der Tonsillen durch Kalkincrustation des retinirten Secretes bilden und gelegentlich, etwa bei einem Hustenstoss, entfernt werden. Der Patient, oft auch der Arzt, wird durch einen derartigen vermeintlichen Lungenstein sehr beunruhigt; bei der mikroskopischen Untersuchung stellt man sehr leicht die richtige Diagnose. Durch Zusatz von verdünnter Salzsäure wird der Kalk gelöst, es restiren dann die grossen, verhornten Epithelzellen, die zuweilen in Form von concentrischen Kugeln angeordnet sind; ausserdem massenhafte Microorganismen.

b. Produkte der Schleimhaut des Respirationsapparats.

Erst nachdem man sich mit allen diesen, accidentell im Auswurf vorkommenden Elementen genau bekannt gemacht hat, kann man mit Vortheil an die mikroskopische Untersuchung desselben herangehen. Der Hauptbestandtheil des Auswurfs ist ein Absonderungsprodukt der entzündeten Respirationsschleimhaut, eine schleimige Flüssigkeit mit mehr oder minder reichlichen darin befindlichen Rundzellen. Das Sekret der Schleimhaut des Rachens und des oberen Theils des Kehlkopfes, soweit derselbe geschichtetes Plattenepithel trägt, ist ausserdem stets sehr reich an desquamirten

Epithelzellen; dagegen findet in dem übrigen Respirationstractus, in dem unteren Theil des Kehlkopfes, Trachea und Bronchien, also überall da, wo die Schleimhaut mit hohem, cylindrischem Flimmerepithel besetzt ist, eine Epitheldesquamation nur in seltenen Fällen statt. Flimmerzellen oder Reste derselben werden darum seltener im Sputum gefunden.

Der glasig-durchsichtige Antheil der Sputa ist sehr arm an geformten Elementen; je reicher die letzteren, desto trüber, undurchsichtiger wird das Sputum, der maximale Reichthum an Rundzellen findet sich in dem eitrigen Sputum, hier sind auch gewöhnlich schon reichliche feine Fettkörnchen in dem Protoplasma der Rundzellen, welche ihrerseits die Undurchsichtigkeit vermehren und den gelblichen Farbenton bedingen. Die Rundzellen sind in den meisten Fällen bereits abgestorben, starr, bestehen aus dunkelkörnigem Protoplasma und einem oder mehreren Kernen; eine besondere Wandschicht ist gewöhnlich nicht vorhanden, meist ist ihr Rand feinhöckerig, wie ausgefressen. Die Protoplasmakörnung ist meist so stark, dass der Kern resp. die Kerne verdeckt werden; durch Essigsäure treten diese dann deutlicher hervor, indem die Protoplasmakörner grösstentheils verschwinden.

Die meisten der Rundzellen, die wir im Sputum finden, sind etwa von der Grösse der weissen Blutkörperchen oder wenig darüber. In der That darf man wohl annehmen, dass wenigstens ein grosser Theil von ihnen direkt als emigrirte, weisse Blutkörper aufzufassen sind, ein anderer Theil derselben mag aus den Schleimdrüsen oder aus dem entzündeten Gewebe der Schleimhaut herstammen.[1]) Ausserdem aber findet man nicht selten auch grössere, epithelähnliche Rundzellen im Sputum, charakterisirt durch eine scharfe, ungefähr kreisförmige Contur und durch einen bläschenförmigen Kern; d. h. der Kern (seltener auch die zwei Kerne) wird durch eine dunkle, scharf gezogene Linie begrenzt, sein Inneres ist hell und enthält einen oder mehrere Kernkörperchen. Macht man Tinctionen (am besten am erhitzten Trockenpräparat mit basischen Anilinfarbstoffen), so färben sich die Kerne dieser epithelähnlichen Zellen nicht so intensiv und gleichmässig dunkel, wie die der gewöhnlichen, kleinen Rundzellen, sondern lassen ebenfalls den Unterschied zwischen dunkel gefärbter Peripherie und heller Mitte erkennen. In dem Protoplasma dieser grösseren Zellen findet man ab und zu ebenfalls einige Fettkörnchen, oft auch schwarzes Pigment in Form von kleinsten Körnchen oder auch von unregelmässigen Schollen, sogenanntes Lungenpigment; häufig finden wir schon bei makroskopischer Betrachtung schwärzliche oder rauchgraue Flecken und Streifen. Bei der mikroskopischen Analyse constatiren wir dann bald, dass die schwärzliche Färbung lediglich

[1]) Bei Asthma, Bronchitis u. im Nasenschleim, nicht aber bei Phthisis u. Bronchitis foetida fand Gollasch Leukocyten mit eosinophilen Granulationen. S. auch S. 173.

von der reichlichen Anwesenheit der Pigment-tragenden Zellen herrührt, freies Pigment ist gewöhnlich nur in geringer Menge vorhanden. Diese schwarzen Körnchen und Schollen in den Zellen sind nun sämmtlich als inhalirter Kohlenstaub aufzufassen, der auf der schleimigen Oberfläche des Respirationstractus niedergefallen und festgehalten, nachträglich dann in das Innere von amöboiden Zellen aufgenommen worden ist.

Bei Individuen, welche viel Gelegenheit haben, Kohlenstaub einzuathmen, z. B. Kohlenarbeiter, bei starken Rauchern, fehlen diese pigmentirten Zellen in dem Sekret der Rachen- und Respirationsschleimhaut fast nie; indessen hat jeder Mensch, der unter unsern Culturzuständen lebt, grösstentheils in geheizten, geschlossenen Räumen, selbst im Freien unter dem Einfluss russender Schornsteine, bei jedem Athemzuge Gelegenheit, Kohlenstaub in feinster Vertheilung in seinen Respirationsapparat einzuführen. Je mehr Schleim auf der Oberfläche des Respirationstractus abgesondert wird, desto mehr von dem Kohlenstaub wird retinirt: ein Theil davon wird durch Hülfe amöboider Zellen in das interstitielle Gewebe der Lungen und in die Lymphdrüsen derselben eingeschleppt, ein andrer Theil wird mit dem Sputum wieder entfernt.

Eigentliches, d. i. im Organismus selbst entstandenes Pigment kommt in den Sputis ebenfalls, indessen nur sehr selten vor; es charakterisirt sich sofort durch die bräunliche (nicht schwarze) Farbe und deutet entweder auf eine vorangegangene Hämorrhagie oder aber auf eine Stauung im Lungenvenensystem mit Austritt rother Blutkörperchen und Pigmentumwandlung derselben (braune Induration der Lungen). Zuweilen finden sich auch Hämatoidincrystalle.

In den besprochenen grösseren, epithelähnlichen Rundzellen der Sputa kommt nicht selten noch eine Einlagerung homogener, mattglänzender Körnchen vor, welche wegen einer rein äusserlichen Aehnlichkeit als „Myelinkörner" bezeichnet werden; über ihre Natur und Bedeutung ist etwas Sicheres nicht bekannt.

In den bekannten Aufstellungen von Buhl[1]) wurde auf diese grösseren Rundzellen in den Sputis ein besonderer Werth gelegt; sie wurden direkt als desquamirte Lungenalveolar-Epithelzellen aufgefasst und aus ihrem reichlichen Vorkommen im Auswurf die „desquamative Pneumonie", damit die beginnende Phthisis diagnosticirt. Diese Anschauungen haben sich als unhaltbar erwiesen; man findet oft genug grosse Mengen dieser Zellen, selbst in Haufen zusammengedrängt, und mit „Myelin"-, Fett- und Pigmentkörnern versehen, in dem morgendlichen Sputum von ganz gesunden Menschen[2]) und bei einfachen Bronchialkatarrhen. Dass man sie wirklich in allen Fällen als desquamirte Epithelzellen der

[1] Buhl, Lungenentzündung, Schwindsucht u. Tuberkulose. München, 1872.

[2]) Vgl. Guttmann und Smidt, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 3. Panizza, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1881. Bizzozero, Centrbl f. klin. Med. 1881. S. 529.

Lungenalveolen anzusehen hätte, ist ebenfalls in hohem Grade unsicher; im Gegentheil ist es durch vielfache Untersuchungen wahrscheinlich geworden, dass unter Umständen gewöhnliche Wanderzellen (lymphoide Zellen etc.) in derartige, epithelähnliche Elemente umgewandelt werden können.

Von sonstigen zelligen Elementen findet man zuweilen Fettkörnchenzellen (bei subacut-pneumonischen Processen) und als Seltenheit auch Riesenzellen (bei tuberkulöser Phthisis).

c. Elastische Fasern. Fibrinausgüsse. Asthmacrystalle. Spiralfäden.

Der Befund von elastischen Fasern im Sputum ist naturgemäss von einer sehr hohen Bedeutung, indem wir durch denselben direkt den Zerstörungsprocess im Innern der Lunge nachweisen. Man findet, wie schon erwähnt, die elastischen Fasern meist in den beschriebenen, undurchsichtigen Pfröpfen; durch Zusatz von starker Essigsäure gelingt es oft, auch sehr dicke Partien dieser Pfröpfe recht durchsichtig zu machen, innerhalb deren dann die elastischen Fasern, welche bekanntlich der Essigsäure widerstehen, sehr schön hervortreten. Oder man übergiesst das Sputum mit Natronlauge, schüttelt, lässt absetzen, decantirt und untersucht den Bodensatz. Alles Andere ist durch Natron zerstört, nur die elastischen Fasern sind noch übrig. Der Anfänger hält zuweilen kleine Stücken von Baumwollenfasern etc., die ebenfalls der Essigsäure resistiren, für verdächtig; auch Fettsäurenadeln, die in den Sputis bei putrider Bronchitis, Lungengangrän und ähnlichen Affectionen oft in grosser Menge vorkommen, können in ihren langen, geschwungenen Formen möglicher Weise Anlass zur Verwechslung geben; bei leichter Erwärmung schmelzen sie und wandeln sich zu kleinen Fettkörnchen um. Man mache es sich zur Regel, nur dann auf elastische Fasern zu diagnosticiren, wenn mehrere derselben zusammenliegen und durch ihren charakteristischen, geschwungenen Verlauf deutlich erkennen lassen, dass das Gerüst einer Alveolenwand vorliegt. Oft genug findet man grössere, zusammenhängende, mehrere Alveolen umfassende Stücke des Lungengerüsts; je reichlicher und je grösser diese (mikroskopischen) Lungenfetzen, einen desto schwereren und rapideren Zerstörungsprocess wird man annehmen müssen.

Es ist übrigens zu bemerken, dass man bei Lungengangrän zuweilen in den mikroskopisch erkennbaren, ausgehusteten Lungenfetzen keine elastischen Fasern mehr vorfindet; dieselben werden in putriden Flüssigkeiten allmälig aufgelöst. Traube, der auf dieses Verhalten aufmerksam machte, erblickte hierin ein diagnostisches Kriterium gegen den Lungenabscess, innerhalb dessen die elastischen Fasern sich länger conserviren. Auch bei der gewöhnlichen Verkäsung in der Lunge gehen die elastischen Fasern, allerdings nur sehr allmälig, verloren.

Fibrinöse Massen kommen ebenfalls unter bestimmten Verhält-

nissen in den Sputis vor, und zwar grobe Fibrinausgüsse der Bronchien bei croupöser Bronchitis und Fibrinausgüsse der feineren Bronchien bei der acuten Pneunomie (Remak). Saenger fand sie in 94 pCt. der Fälle. Die schon mikroskopisch erkennbaren, dichotomisch verzweigten Fibrinmassen zeigen mikroskopisch die bekannte Zusammensetzung aus einem Filz feiner Fasern, die mit Essigsäure aufquellen und verschwinden, mit reichlichen, eingelagerten Rundzellen und massenhaften Schizomyceten.

Der Asthmacrystalle haben wir bereits kurz Erwähnung gethan; es sind sehr spitze Octaëder, die im Sputum von Asthmatikern während des Anfalls in den beschriebenen Pfröpfen in grosser Menge gefunden werden, während sie in der anfallsfreien Zeit gewöhnlich fehlen. Uebrigens wurden sie zuweilen auch ohne Asthma im Sputum angetroffen, sind also nicht etwa specifisch für diese Krankheit. Sie sind vollständig analog den Crystallen, die im Sperma, im Knochenmark und Blut, besonders bei Leukämie, und an verschiedenen, andern Orten gefunden worden sind, und die nach Schreiner aus dem phosphorsauren Salz einer organischen Base bestehen.

Oft finden sich die erwähnten Crystalle eingebettet in eigenthümlich spiralförmig gewundene, fädige Massen aus Schleim, die man als Exsudationsproduct der feinsten Bronchien aufzufassen hat. Diese Spiralen (Curschmann's) finden sich ausser bei Asthma zuweilen auch in Fällen von acuter, fibrinöser Pneumonie. Sie bestehen fast ausschliesslich aus Leukocyten mit eosinophilen Granulationen.[1])

Tuberkelbacillen.

Schizomyceten kommen im Sputum schon wegen der beigemengten Mundflüssigkeiten in grosser Menge vor; dazu kommen die aus dem Respirationsapparat selbst stammenden Formen, z. B. bei Bronchitis putrida und diphtheritica, bei eitrigem Bronchial- und Trachealkatarrh etc. Die grüne Färbung des Sputums wird durch verschiedene Bacterien bewirkt, welche in dasselbe gelangten. Wir sind indessen noch nicht im Stande, in dem Gewirre der verschiedenen Formen uns zurechtzufinden, die vermeintlichen „Entdeckungen" des Keuchhustenpilzes, des Masernpilzes, der Dipththerie-Micrococcen etc. in den Sputis haben bei den Kennern dieses Gebietes niemals die geringste Bedeutung gefunden. Dagegen ist der Befund der Tuberkelbacillen im Sputum von der allergrössten Bedeutung.

Denn es hat sich bei Anwendung der Ehrlich'schen Färbungsmethode herausgestellt, dass die specifischen Bacillen im Sputum der Phthisiker fast niemals fehlen, oft schon sehr früh sich finden, wenn die übrigen Symptome noch Zweifel über die Erkrankung lassen, und dass andererseits ihr Vorkommen ein absolut sicheres Kriterium für die tuberkulös-phthisischen Processe abgiebt.

[1]) Gollasch, Zur Kenntniss d. asthmat. Sputums. Fortschr. d. Med. No. 10. 1889.

Fehlen sie dennoch oft, wenn eine vorhandene Phtisis nicht mehr fraglich sein kann, so erklärt sich dies daraus, dass eben noch kein Zerfall eingetreten ist. Die Färbungsmethode, welche mit dem Nachweise der Bacillen auch zugleich ihre Specifität darthut, ist dieselbe, wie wir sie oben für die Tuberkelbacillen in Schnitten angegeben haben. Das erhitzte Trockenpräparat des Sputums wird auf dem Deckgläschen mit einer concentrirten Lösung von Gentianaviolett oder Fuchsin in Anilinwasser (d. i. einer gesättigten, filtrirten Lösung von Anilin) durch 24 Stunden gefärbt; wird die Färbung bei hoher Temperatur vorgenommen, so reicht schon eine ganz kurze Zeit (einige Minuten) aus; man träufelt einige Tropfen der Farblösung auf das Deckplättchen und erwärmt es 2—3 Finger hoch über der Weingeistlampe bis Dampfbildung erfolgt; dann wird durch starke Mineralsäuren, etwa Salzsäure von 20 pCt. oder durch Alkohol, dem 3 pCt. Salpetersäure zugesetzt worden sind, die Entfärbung vorgenommen. Die sämmtlichen, übrigen Schizomyceten des Sputums, welche ursprünglich mit gefärbt waren, sind dann entfärbt, ebenso die Schleimmassen etc., nur allein die Tuberkelbacillen treten als intensiv gefärbte Stäbchen hervor. Meist finden wir sie im Sputum im Zustande lebhafter Sporenbildung; die Sporen treten als farblose, die ganze Breite des Bacillus einnehmende Kugeln auf. Sind mehrere Sporen in einem Bacillus, so kann dieser dadurch in eine Körnerreihe aufgelöst erscheinen.

Um die Einstellung zu erleichtern, kann man nachträglich noch durch jedes beliebige Tinctionsverfahren eine Grundfärbung anbringen, mit Vesuvin bei Blaufärbung der Bacillen, mit Malachitgrün oder Methylenblau bei Rothfärbung derselben, die dann natürlich einen von den gefärbten Tuberkelbacillen möglichst contrastirenden Farbenton haben muss; in den meisten Fällen ist diese Doppelfärbung unnöthig. (Siehe die verschiedenen Färbungsmethoden S. 131—138).

Bedeutung des Befundes der Tuberkelbacillen.

Schwere und leichte Formen der Lungenphthisis.

Die Lungenphthisis gehört in das Gebiet der Tuberkulose. Die von Reinhardt und Virchow urgirte Trennung der käsigen Pneumonie und käsigen Bronchitis von der eigentlich tuberkulösen Form der Phthisis wird natürlich vom descriptiv-anatomischen Standpunkte aus aufrecht erhalten werden müssen; indessen muss die durchgreifende Scheidung dieser Processe, schon auf Grund der histologischen Verhältnisse, besonders aber vom aetiologischen und vom praktischen Standpunkte aus fallen gelassen werden. Schon die genauere histologische Untersuchung zeigte in der käsigen Pneumonie und Bronchitis dieselbe elementare Zusammensetzung, wie in den sogenannten echten Tuberkeln; Friedländer hat diesen Nachweis im Jahre 1873 in dem Vortrage „Ueber lokale Tuberkulose“ (Volkmann's Samml. kl. Vorträge) mit aller Be-

stimmtheit geführt. Bei jeder Phthisis, auch bei den scheinbar nicht tuberkulösen Formen, finden sich nämlich stets die charakteristischen, submiliaren, gefässlosen Knötchen mit Riesenzellen etc., welche den Haupttypus des zu seiner vollen histologischen Entwickelung gelangten Tuberkels darstellen.

Diese bis dahin unbekannten Thatsachen mussten die Virchow'sche Lehre von der Dualität der Phthisis, die schon vorher ihre grossen Schwierigkeiten hatte, ganz wesentlich einschränken; die alltägliche Beobachtung beispielsweise des Eintritts einer tuberkulösen Pleuritis im Verlaufe einer käsigen Pneumonie durfte danach nicht mehr als das Hinzutreten einer neuen Erkrankung, sondern vielmehr lediglich als die weitere Ausdehnung desselben Krankheitsvorgangs, der schon vorher in der Lunge bestanden hatte, auf die Pleura angesehen werden.

Mehrere Jahre später hat dann Charcot und seine Schule auf Grund derselben Beobachtungen die „unité de la phthisie" in einer Reihe von Arbeiten vertreten; auch der Standpunkt von Rindfleisch war ein ähnlicher. Durch die späteren, experimentellen Untersuchungen von Tappeiner, Cohnheim und Salomonsen und Anderer, welche an die Villemin'sche Entdeckung der Impfbarkeit der Tuberkulose anknüpften, und besonders durch die epochemachenden Entdeckungen Koch's ist dann mit der grössten Bestimmtheit dargethan worden, dass der Phthisis und Tuberkulose ein und dieselbe aetiologische Entität zu Grunde liegt; wobei natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass unter Umständen noch andere Faktoren dabei mitspielen.

Die Lungenschwindsucht ist also nach alledem in der That als eine in den meisten Fällen lokale Tuberkulose der Lungen anzusehen.

Finden wir nun denjenigen Parasiten, von dem wir wissen, dass er Tuberkulose erzeugt, in dem Sputum, so ist der zwingende Schluss daraus zu ziehen, dass im Respirationsapparat (Mund- und Rachenschleimhaut mit eingeschlossen) ein tuberkulöser Process sich abspielt.

Werden wir daraus den weiteren Schluss ziehen, dass der betreffende Mensch der allgemeinen Tuberkulose verfallen und in Folge dessen verloren ist? Nein, das wäre ein grober Fehler.

Der Bacillus der Tuberkulose findet sich nicht nur in denjenigen Fällen, in denen die Affection mehr oder minder rapide fortschreitet und event. durch Uebergang auf Blut- und Lymphgefässe zur allgemeinen Verbreitung über den Organismus gelangt, sondern auch in solchen Fällen, die lange Zeit, Jahre und Jahrzehnte lang, lokal begrenzt bleiben und schliesslich sogar vollständig ausheilen können, also in den Fällen von „lokaler Tuberkulose". Der menschliche Organismus verhält sich in dieser Hinsicht wesentlich verschieden von den hauptsächlich zu den Versuchen

verwendeten Kaninchen und Meerschweinchen: kommt bei diesen irgendwo, z. B. nach Impfung in die vordere Augenkammer, im Bulbus eine tuberkulöse Affection zu Stande, so verbreitet sich, wie es scheint, ausnahmslos die Tuberkulose im Laufe einiger Wochen oder Monate über die verschiedensten Organe des Thieres; meist gehen die Thiere an der Affection rasch zu Grunde. Anders scheinen sich Hunde zu verhalten; doch liegen hierüber noch weniger zahlreiche Thatsachen vor. Dagegen steht es fest, dass beim Menschen die durch die Tuberkel-Bacillen verursachte Affection in vielen Fällen durch Jahre und Jahrzehnte hindurch relativ gutartig und lokal begrenzt bleibt, eventuell mehr oder minder vollständig ausheilt; allerdings liegt, so lange der Process besteht, stets die Gefahr vor, dass er plötzlich an Intensität zunimmt und, ohne dass wir die veranlassenden Momente nachweisen können, eine lokale oder allgemeine, rapide Verbreitung gewinnt. Der menschliche Organismus scheint in den meisten Fällen einen nur mässig günstigen Nährboden für die Tuberkel-Bacillen abzugeben, so dass sie sich meist nur sehr spärlich vermehren; kommt unter gewissen, bisher nicht näher bekannten Bedingungen eine schnelle Entwickelung der Parasiten zu Stande, so bewirkt dies ein rasches Fortschreiten des Processes. Leider beherrschen wir zur Zeit diese Bedingungen, durch welche in vielen Fällen die Vermehrung der Parasiten verlangsamt resp. verhindert wird, noch nicht; würden wir dahin gelangen, so hätten wir sofort die Therapie der Tuberkulose. Wir dürfen uns der Hoffnung hingeben, dass auch dieses hohe Ziel nicht unerreichbar ist, jedenfalls sind die Wege dazu geebnet.

Finden wir also die Tuberkel-Bacillen im Sputum, so weisen wir dadurch einen tuberkulösen Process nach, welcher möglicherweise durch ausgedehnte, rasche lokale Zerstörungen und durch Uebergang auf andere Organe sehr gefährlich werden kann; die Möglichkeit eines sehr langsamen, blanden Verlaufes und sogar einer Heilung ist aber nicht ausgeschlossen.

Die Diagnose eines tuberkulösen Processes in den Lungen wird jetzt durch den Nachweis der Tuberkel-Bacillen in vielen Fällen ermöglicht werden, welche früher einer sicheren Diagnose nicht oder nur sehr schwer zugänglich waren. Die Tuberkel-Bacillen finden sich auf der Oberfläche jeder, auch der kleinsten, phthisischen Caverne, auf tuberculösen Defekten der Bronchien etc. in grösster Zahl vor, sie sind bei ihrer ausserordentlich scharfen Charakterisirung durch die isolirte Färbbarkeit deshalb im Sputum viel leichter und rascher aufzufinden, als die elastischen Fasern, durch welche bisher allein der Zerstörungsprocess in den Lungen nachgewiesen werden konnte. Es werden danach bei sorgfältiger Untersuchung der Sputa auch die äusserst zahlreichen, leichten, günstig verlaufenden Fälle von Phthisis als solche erkannt werden, welche früher meist als „ver-

dächtige" Lungenkatarrhe, Bronchitis etc. angesehen wurden, selbst solche Fälle, die nur höchst unerhebliche, subjektive Beschwerden veranlassen. Und wie zahlreich derartige günstig verlaufende „Phthisen" sind, davon überzeugt man sich am besten am Leichentisch. Bei gesunden, kräftigen Individuen, Erwachsenen, die durch ein Accidens, durch eine acute Krankheit etc. zu Grunde gegangen sind, finden wir fast in der Hälfte der Fälle die Spuren und Reste von phthisischen Zerstörungsprocessen in der Lunge; und zwar in Form von käsigen, oft kalkig incrustirten Massen, mit Höhlenbildungen, umgeben von schiefrig-indurirtem narbigem Gewebe. Von diesen Fällen sind viele vollständig oder nahezu latent verlaufen, jedenfalls haben die meisten niemals den Verdacht einer schweren Lungenaffection erregt; in allen diesen Fällen aber hätten zu einer gewissen Zeit die Tuberkulose-Bacillen im Sputum nachgewiesen werden können.

Dass übrigens aus solchen, scheinbar in bester Heilung begriffenen oder selbst ganz latent verlaufenden Phthisen, deren Ausdehnung nur ganz unerheblich zu sein braucht, dennoch plötzlich eine schwere tuberkulöse Pleuritis, oder selbst eine tödtliche tuberkulöse Meningitis etc. hervorgehen kann, das ist jedem Praktiker bekannt und wird durck klinische und anatomische Thatsachen oft genug erhärtet.

Wir werden also aus dem Befunde der Tuberkel-Bacillen im Sputum stets eine ernste, aber durchaus nicht ohne Weiteres eine unbedingt schlechte Prognose abzuleiten haben. Es ist ja bekannt, dass selbst ausgedehnte, phthisische Zerstörungen in den Lungen unter günstigen Umständen zum Stillstand kommen, und dass nicht jede Phthisis incipiens zur Zerstörung der Lunge führen muss. Jedenfalls aber wird die Diagnose der tuberkulösen Erkrankung auf das Regimen des Patienten etc. von bestimmendem Einfluss sein. Es ist durchaus wahrscheinlich, dass durch die frühzeitige Erkenntniss der Tuberkulose vielen Patienten das Leben erhalten werden kann: indem man sie in solche klimatische etc. Verhältnisse bringt, welche erfahrungsgemäss bei beginnender Phthisis günstig einwirken.

Wie weit aus der Menge der im Sputum gefundenen Tuberkel-Bacillen auf die Ausdehnung des phthisischen Processes geschlossen werden darf, müssen erst weitere Untersuchungen lehren.

Andererseits ist die Abwesenheit von Tuberkel-Bacillen im Sputum, wenn sie constant bleibt, als ein sicheres Zeichen dafür anzusehen, dass tuberkulös-phthisische Zerstörungsprocesse in den Lungen derzeitig nicht stattfinden. Sind zu gleicher Zeit elastische Fasern im Sputum vorhanden, während die Tuberkel-Bacillen fehlen, so müssen wir auf einen anderweitigen Zerstörungsprocess in der Lunge (Abscedirung, zerfallender Tumor etc.) schliessen.

Es ist übrigens zu betonen, dass gewisse chronische Ulcerations-

processe der Lungen vorkommen, die nicht tuberkulöser Natur sind, bei denen also Tuberkelbacillen nicht gefunden werden. Es sind das höchst seltene Fälle; bei der diabetischen Zerstörung der Lungen sind von Riegel derartige Beobachtungen gemacht worden; in den meisten Fällen der diabetischen Phthise sind übrigens reichliche Bacillen vorhanden. Das anatomische Bild der Lungen kann in denjenigen Fällen, bei denen die Bacillen fehlen, der gewöhnlichen, tuberkulösen Phthisis sehr ähnlich sein.

Selbstverständlich wird man an die Untersuchung auf Tuberkelbacillen im Sputum nur mit den besten Hilfsmitteln gehen. Man kann in günstigen Präparaten die Bacillen allerdings schon mit schwächeren Linsen erkennen; sind dieselben sehr zahlreich, so geben sie sich zuweilen schon für das blosse Auge durch die Färbungsdifferenz zu erkennen. Indessen wäre es ganz verfehlt, anders als mit den besten Immersionslinsen Untersuchungen auf Tuberkelbacillen vorzunehmen, denn es ist leicht möglich, dass die im Präparat vorhandenen, vielleicht sehr spärlichen Bacillen bei Untersuchung mit etwas schwächeren Systemen (z. B. Trockenlinsen) nicht gefunden, übersehen werden und erst bei entsprechend stärkerer Vergrösserung (wenigstens 600) deutlich hervortreten. Jedenfalls ist es unmöglich, ein negatives Urtheil betreffs der Tuberkelbacillen abzugeben, ohne Anwendung starker, vorzüglicher Oel-Immersionssysteme und des Abbe'schen Apparats. Wer die Kosten der Anschaffung dieser nicht ganz wohlfeilen Hilfsmittel scheut oder vor der Unbequemlichkeit des Arbeitens mit denselben zurückschreckt, der muss auf die Ausführung von Schizomycetenuntersuchungen verzichten.

Pneumonie-Micrococcen.

Im Sputum der acuten Pneumonie gelingt es nicht selten, die mit breiter, färbbarer Kapsel versehenen Micrococcen (oder wenn man will Bacterien) Friedländer's Pneumoniecoccus in grosser Menge nachzuweisen. Indessen sind ähnliche Organismen mit mehr oder minder breiter Kapsel auch ohne Pneumonie zuweilen im Sputum gefunden worden, die mikroskopisch nicht sicher von den Pneumonie-Bacterien unterschieden werden konnten (Coccus der Sputum-Septicämie). Die pathologische Bedeutung der Pneumoniebacterien ist dadurch nicht in Frage gestellt, wir werden aber jedenfalls allen Grund haben, das Vorkommen von Kapselbacterien im Sputum nur mit grosser Vorsicht zu diagnostischen Schlüssen zu verwerthen.

Farblose Höfe um Micrococcen herum findet man sehr oft im Sputum, dieselben dürfen mit den färbbaren Kapseln keinesfalls verwechselt werden; mehrere unvorsichtige Beobachter haben sich dieser groben Verwechselung schuldig gemacht.

Verschiedene Organismen.

Gelegentlich kommen ausser den schon aufgezählten Organismen Leptothrix und der Soorpilz (beide aus der Mundhöhle), ferner Aspergillus, Micrococcus tetragenus, Sarcine und Fäulnisspilze (aus Cavernen) vor.

3. Eiter.

Der Eiter besteht im Allgemeinen aus einer Flüssigkeit (Eiterserum) und darin suspendirten, kleinen Rundzellen, den Eiterkörperchen; ausserdem enthält er in den meisten Fällen auch Microorganismen.

a. Eiterkörperchen und Fettkörnchenzellen.

Die Eiterkörperchen sind den weissen Blutkörperchen, Lymphkörperchen etc. sehr ähnlich, resp. mit diesen identisch. Es sind polynucleäre Leukocyten (s. S. 160). In frischem Zustande untersucht, d. h. in einem Eiter, der erst vor kurzer Zeit abgesondert worden ist, zeigen sie amöboide Bewegungen und haben dann das charakteristische, glänzende Aussehen des lebenden Protoplasmas. In den meisten Fällen indessen sind sie bereits abgestorben, ihr Protoplasma ist dann grobkörnig geronnen; der Kern resp. die Kerne sind gewöhnlich verdeckt. Vielfach sieht man in dem Protoplasma eingestreute, feinste Fettkörnchen und zwar reichlich in solchen Eiterkörperchen, welche schon längere Zeit abgestorben sind, also besonders im Inhalt der sogenannten, kalten Abscesse.

Die Eiterkörperchen sind untereinander meist von annähernd gleicher Grösse; etwa entsprechend den mittleren, weissen Blutkörpern. Oft indessen sind grössere Zellen mit beigemischt, gewöhnlich mit bläschenförmigem Kern; sammeln sich in diesen reichliche Fettkörnchen an, so entstehen die bekannten Fettkörnchen-Zellen; auch diese sind zuweilen noch lebendig und machen amöboide Bewegungen. Sie kennzeichnen sich schon mit der schwachen Linse als grössere, dunkle Häufchen zwischen den gewöhnlichen Eiterzellen; die Dunkelheit derselben bei schwacher Vergrösserung verleitet den Anfänger nicht selten, an Pigmentirung zu denken, sie ist aber lediglich durch die vielen übereinander gelegenen Fettkörnchen bedingt. Das von unten her einfallende Licht wird bei den vielfachen Uebergängen aus der Flüssigkeit in die Fetttröpfchen, aus diesen wieder in die Flüssigkeit resp. die protoplasmatische Substanz, wie von reflectirenden, kugelig gewölbten Spiegelflächen zurückgeworfen, gelangt also nicht in das Auge des Beschauers, daher der Eindruck des Schwarzen. Dagegen erscheint natürlich dieselbe Fettkörnchenzelle hellweiss, wenn wir sie von oben beleuchten, eben in Folge der vielen reflektirenden Flächen; wenn wir daher das Licht des Spiegels abblenden, so erscheinen die Fettkörnchen-Zellen als weissglänzende Kugeln im dunkeln Gesichtsfelde (vor-

ausgesetzt, dass das Licht von oben her überhaupt an das Präparat gelangen kann; die starken Objektivsysteme müssen gewöhnlich dem Präparat so sehr genähert werden, dass sie es vollständig beschatten).

Indessen sind auch wirkliche Pigmentkörner, meist in Zellen eingeschlossen, nicht selten im Eiter vorhanden, als Residuen von Blutaustretungen; sie sind durch eine bräunliche Farbe charakterisirt, zuweilen finden sich auch Hämatoidin-Krystalle.

b. Beimengungen.

Der Eiter stammt entweder von einer freien Oberfläche (Schleimhaut, seröse Membran, Ulcerationsfläche etc.) oder mitten aus dem Gewebe; in beiden Fällen enthält er oft die Bestandtheile seines Ursprungsortes beigemengt. Da nun dieser letztere in vielen Fällen nicht von vorn herein bekannt ist, sondern gesucht wird, so ist es klar, dass gerade die Beimengungen des Eiters von hoher, diagnostischer Bedeutung werden.

So wird die wichtige Frage, ob ein Abscess mit dem Knochen zusammenhängt, oft genug durch genaue, mikroskopische Untersuchung des Eiters entschieden; die unregelmässig gestalteten Knochenfragmente, die im Eiter in diesen Fällen gefunden werden und oft mit buchtigen Resorptionsflächen, den sog. Howship'schen Lacunen, versehen sind, geben dann absolut sichere Beweisstücke ab. Sie sind durch den starken Glanz ihrer verkalkten Grundsubstanz und durch die charakteristischen, stern- oder spinnenförmigen Knochenkörperchen gekennzeichnet; man findet sie schon mit schwacher Linse; falls es nothwendig ist, so hellt man das Präparat mit Kalilösung auf, so dass die Eiterzellen verschwinden; ist der Eiter nicht allzu dick, so lässt man sedimentiren und untersucht den Bodensatz.

In anderen Fällen finden wir Nahrungsbestandtheile und schliessen daraus auf eine Communication mit dem Verdauungskanal; oder wir finden Epithel, Tumorelemente etc. und erhalten auf diese Weise oft ganz überraschende, diagnostische Aufklärungen, die oft auch direkt zu therapeutischer Verwendung gelangen.

Beispiel: In dem Eiter eines im Wochenbett aufgetretenen Abscesses, der neben der Schilddrüse lag, fanden sich verhornte, platte Epidermiszellen in grosser Zahl und reichliches Cholesterin; man diagnosticirte sofort eine vereiterte Kiemencyste und exstirpirte den Sack. Auch vereiterte Echinococcensäcke werden häufig erst durch mikroskopische Untersuchung des Eiters richtig erkannt, indem man entweder ganze Scolices oder die charakteristischen Haken, oder die geschichteten, homogenen Membranen nachweist.

c. Schizomyceten und Actinomyceten.

In dem Eiter der acuten Abscesse[1]) finden sich sehr reichliche Micrococcen, theils in Ketten, theils in Haufen angeordnet, die entweder ohne Weiteres bei der frischen Untersuchung oder nach den bekannten Färbungsverfahren sichtbar gemacht werden.

Bei Meningitis cerebrospin. epid. ist in mehreren Fällen der Diplococcus der Pneumonie (Fränkel's) gefunden worden. Nach dem bisher vorliegenden Material ist es nicht unwahrscheinlich, dass auch andere Organismen Ursache dieser Krankheit sein können. In dem gonorrhoischen Eiter findet sich der Gonococcus.

Bei chronischen Eiterungen ist das Vorhandensein von Microorganismen inconstant; natürlich reden wir hierbei nur von solchen Fällen, bei denen der Eiter nicht mit der äusseren Luft communicirt; in diesen finden sich natürlich saprophytische Microorganismen stets vor.

Bei tuberkulösen Eiterungen (periarticulären Abscessen und Gelenkeiterungen, bei Arthritis fungosa, scrophulösen und cariösen Abscessen, käsig-eitriger Lymphadenitis etc.) sind oft genug Tuberkel-Bacillen vorhanden, die dann stets von pathognomonischer Bedeutung sind. Dagegen ist ihr Vorkommen nicht so regulär wie bei der Lungenphthise; in vielen echt tuberkulösen Abscessen sind Bacillen nicht zu finden, nach Schlegtendal (Fortschr. d. Med. 1883, S. 537) etwa in der Hälfte der Fälle. In Abscessen des Zahnfleisches wurden einige Male Spirillen gefunden.

Seltener finden sich anderweitige Organismen im Eiter; wobei wir von denen absehen wollen, die rein accidentell und nachträglich im Eiter zur Entwickelung kommen, z. B. diejenigen Bacillen, welche die Färbung des „blaugrünen Eiters" bedingen.

Die Actinomyceten, die beim Menschen zuerst von Langenbeck, später von J. Israël, Ponfick u. A., beim Rindvieh von Bollinger gefunden wurden[2]), sind schon makroskopisch in Form von gallertigen, hirsekorngrossen Körnern im Eiter zu erkennen; beim Zerdrücken der Körner tritt die eigenthümliche Structur direkt zu Tage; eine Färbung ist überflüssig. Für die Färbung der Actinomyceten im Schnittpräparat ist die Gram'sche Methode, eventuell mit vorsichtiger Anwendung einer dünnen Säure (zur Entfärbung) und die Färbung mit Picrocarmin besonders zu empfehlen; vgl. S. 142).

4. Urin.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der geformten Bestandtheile des Urins kommen zunächst in Betracht:

---

[1]) Vgl. Ogston, Ueber Abscesse. Arch. f. klin. Chir. Bd. 25

[2]) Vgl. Ponfick, Die Actinomycose, Berlin 1882.

a. Niederschläge und Krystalle.

Die in der Körpertemperatur de norma in Lösung gehaltenen, harnsauren Salze, hauptsächlich harnsaures Natron, fallen beim Erkalten des Urins, wenn sie in etwas grösserer Menge vorhanden sind, in Form von feinen, oft etwas unregelmässig gestalteten Körnchen nieder. Die harnsauren Salze lösen sich schon bei leichter Erwärmung; ebenso bei Zusatz von Säuren, wobei sich Harnsäure in charakteristischen, meist prismatisch geformten, oft bräunlich gefärbten Krystallen abscheidet.

Bei fieberhaften Zuständen, bei der Gicht etc., ist das harnsaure Natron gewöhnlich stark vermehrt; oft findet die Abscheidung der Harnsäure in dem Urin einige Zeit nach der Entleerung spontan statt, d. h. ohne dass Säuren zugesetzt worden sind. Man bezeichnete das früher als „saure Harngährung", aber mit Unrecht; es handelt sich nur darum, dass das saure, phosphorsaure Natron unter Zerlegung des harnsauren Natrons in basisch-phosphorsaures Natron übergeht, wobei die Harnsäure frei wird. Eine eigentliche saure Harngährung, mit Zunahme der sauren Reaction des Urin, kommt nur bei Diabetes zu Stande (Voit und Hofmann).

Zu gleicher Zeit mit den Harnsäure-Krystallen findet oft auch eine Abscheidung von oxalsaurem Kalk in Form kleiner, glänzender Octaëder statt, die von oben gesehen wie „Briefcouverts" erscheinen. Bei abnorm reichlichem Gehalt des Urins an Oxalaten spricht man von „Oxalurie"; bekanntlich bildet der oxalsaure Kalk den Hauptbestandtheil einer wichtigen Klasse von Harnsteinen.

In dem aus dem Körper entleerten Urin kommt dann regelmässig die alkalische resp. ammoniakalische Harngährung zu Stande, d. i. eine Umsetzung des Harnstoffs in kohlensaures Ammoniak, welche bedingt wird durch ein von Musculus isolirtes, ungeformtes Ferment. Dieses Ferment wird aber seinerseits stets von Microorganismen, und zwar von Schizomyceten erzeugt. Gelangen die Organismen resp. deren Keime zu dem in der Blase befindlichen Urin, was hauptsächlich durch den Katheterismus geschieht, so kann die alkalische Harngährung, besonders wenn der Urin in der Blase stagnirt, also bei Lähmungszuständen der Blase, schon innerhalb der Blase eintreten.

Bei der alkalischen Harngährung findet eine starke Trübung des Urins statt; dieselbe wird (abgesehen von den Schizomyceten) gebildet durch:

1. Phosphorsaure Ammoniakmagnesia (Tripelphosphat) in der bekannten Form der Sargdeckelkrystalle, in Säuren sofort löslich.
2. Harnsaures Ammoniak, in Form von „Morgensternen", Kugeln, die mit feinen Spitzen besetzt sind.
3. Phosphorsauren Kalk, der einen amorphen Niederschlag bildet.

Unter pathologischen Verhältnissen finden wir nun ausser den schon

genannten Substanzen, die zuweilen in enormer Menge vorkommen („Harngries") noch verschiedene andere, krystallinische und körnige Niederschläge; so das Cystin in sechsseitigen, regelmässigen Tafeln (Cystinurie), das Xanthin und verwandte Körper; das Tyrosin in Form von garbenartig zusammenliegenden Nadeln, meist gelblich gefärbt, besonders bei acuter, gelber Leberatrophie; Gyps, phosphorsauren und kohlensauren Kalk etc.; alle diese Niederschläge sind durch einfache microchemische Reactionen meist sehr leicht zu bestimmen. Die chemischen Handbücher müssen dabei zu Rathe gezogen werden.

b. Harncylinder[1]).

Wir haben hauptsächlich drei Arten der Cylinder zu unterscheiden, die hyalinen, die wachsartigen und die braunen Cylinder. Die hyalinen bestehen aus einer sehr zart conturirten, vollständig durchsichtigen Substanz und können deswegen leicht übersehen werden; manchmal sind sie durch aufgelagerte Fetttröpfchen mehr ins Auge fallend. Ihre Breite beträgt oft nur etwa den Durchmesser eines rothen Blutkörperchens, meist aber darüber. Bei den verschiedensten, pathologischen Processen finden wir sie im (eiweisshaltigen) Urin, auch in Fällen, in denen weder entzündliche, noch sonst ähnliche Processe in den Nieren vorhanden sind; bei vielen fieberhaften Zuständen, bei Icterus etc. Sie sind demnach als Begleiterscheinung jeder, auch der leichtesten Albuminurie anzusehen.

Dagegen sind die wachsartigen Cylinder, wenn sie in grösserer Zahl gefunden werden, von nicht unerheblicher, diagnostischer Bedeutung; sie sind stets als sichere Zeichen einer Nierenaffection anzusehen, und zwar kann es sich dabei sowohl um Stauung, wie um eigentliche Nephritis handeln.

Die wachsartigen oder colloiden Cylinder bestehen aus einer stärker conturirten, mehr oder minder glänzenden oder auch durch Einlagerung feinster Körnchen leicht getrübten Substanz; im letzteren Falle hat man sie wohl auch als besondere Art mit dem Namen: körnige Cylinder bezeichnet.

Sie sind von sehr verschiedener Breite, bis 0,05 mm. und darüber; ihre Form ist meist genau cylindrisch, mit kreisförmigem Querschnitt, indessen haben sie zuweilen unregelmässige, ausgenagte Ränder (besonders bei der acuten Nephritis). Sehr oft sind sie mit kleinen Rundzellen, Fetttropfen, nicht selten auch mit Epithelzellen besetzt; ja es giebt Formen von Cylindern, die fast ganz aus mehr oder minder fest verschmolzenen

---

[1]) Sie sind durch Henle im Urin entdeckt und alsbald auf Grund von Leichenuntersuchungen als Ausgüsse der Harnkanälchen erkannt worden. Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 1.

Epithelzellen bestehen (Epithelial-Cylinder). Die frühere Bezeichnung „Fibrincylinder" ist mit Recht allseitig verlassen worden; die Substanz der Cylinder ist von dem Fibrin wesentlich verschieden; durch Essigsäure werden sie weder gelöst, noch quellen sie darin an, nur pflegt ihre glänzende Beschaffenheit, ihre dunkle Conturirung und eventuell ihre körnigen Einlagerungen durch die Essigsäure verloren zu gehen, so dass sie dann das Aussehen der blassen, hyalinen Cylinder annehmen.

Durch Jod werden die Cylinder leicht gelb gefärbt, die wachsartigen Cylinder in vielen Fällen sogar dunkelgelb bis rothbraun.

Auf die Controversen über die Entstehung der Cylinder können wir an dieser Stelle nicht eingehen; die hyalinen Cylinder scheinen ein direktes Product der Exsudation zu sein, während die wachsartigen Cylinder wenigstens zum Theil aus zu Grunde gegangenen Epithelzellen hervorgegangen sein mögen.

Eine besondere Art von schmalen, bräunlichen Cylindern hat Riedel[1]) im Urin während der ersten Tage nach Knochenbrüchen entdeckt; er erklärt dieselben mit grosser Wahrscheinlichkeit als Producte des in den Kreislauf gelangten Fibrinferments. In diesen Fällen findet man ausserdem sehr gewöhnlich grössere oder kleinere Mengen von Fett, welches in Form kleiner Tröpfchen in den obersten Schichten des Urins sich ansammelt. Dieses Fett ist durch das Trauma in das kreisende Blut gelangt, wird in die Nierengefässe embolisirt und dann allmälig mit dem Harn ausgeschieden. Auch bei Nierenblutungen und bei hämorrhagischer Nephritis kommen oft braune Cylinder, durch veränderten Blutfarbstoff tingirt, zur Beobachtung, oft auch eigentliche Blutcylinder.

Bei Vergiftung mit chlorsaurem Kali findet sich ein Bodensatz aus glänzenden, körnigen, tropfenähnlichen Gebilden von grünlich brauner Farbe, die aus verändertem Hämoglobin bestehen. Sie kommen bei jeder Hämoglobinurie vor. Erst in späteren Stadien des Prozesses treten sie auch in cylindrischen Conglomeraten auf.

c. Eiter- und Schleimzellen. Epithelien.

Lymphoide Zellen, Eiter- und Schleimkörper kommen oft im Urin vor; sie können aus den Nieren oder den Harnwegen abstammen, oder sie kommen von einem in die Harnwege irgendwo durchgebrochenen Abscess. Auch Epithelzellen finden sich oft, deren Herkunft nicht immer mit Sicherheit festzustellen ist. Bei Urethral- und Blasenkatarrhen findet man zuweilen Epithelzellen, in deren Innern eine oder mehrere lymphoide Zellen eingeschlossen sind; früher hielt man dieselben für endogen entstanden,

---

[1]) Riedel, Ueber das Verhalten des Urins bei Knochenbrüchen. Deutsche Zeitschrift f. Chirurgie, Bd. 10.

jetzt wohl allgemein invaginirt, d. h. nachträglich in das Innere der Epithelzellen eingedrungen.

Fettkörnchenzellen kommen nur selten im Urin vor; Leyden fand sie bei acuter Nephritis.

d. Tumorbestandtheile

sind im Urin mit einiger Umsicht nicht schwer zu diagnosticiren, allerdings nur für denjenigen, der die epithelialen Elemente der Nieren und der Harnwege genau kennen gelernt hat. Besonders die äusserst multiformen und zum Theil mächtig grossen, mit mehreren Kernen versehenen Epithelzellen der Harnblase sind schon oft fälschlicher Weise für Krebszellen gehalten worden.

Auch diphtherische und tuberkulös käsige Massen können im Urin vorhanden sein, gewöhnlich stammen sie aus der Blase, den Ureteren, der Niere.

e. Entozoën

kommen nur höchst selten im Urin vor; Echinococcen, ausserdem Filarien, die letzteren bis jetzt nur in den Tropen, in Fällen von Chylurie gefunden, ebenso Eier von Distoma haematobium. Vielfache Beobachtungsfehler in dieser Richtung sind begangen worden; ein Autor z. B. beschrieb Eier von Strongylus gigas, die er im Urin gesehen haben wollte; bei näherer Untersuchung stellte sich heraus, dass er die Körner von Semen Lycopodii, die durch Verunreinigung in die Präparate gekommen waren, für Eier gehalten hatte.

f. Pflanzliche Parasiten.

In sehr seltenen Fällen ist Sarcine im Urin gefunden worden.

Was das Vorkommen von Bacterien und Micrococcen im Urin betrifft, so ist zur Constatirung derselben natürlich eine absolut frische Untersuchung erforderlich; der normale Urin ist stets frei von derartigen Organismen, kann aber schon wenige Stunden nach der Entleerung grosse Mengen derselben enthalten. In grösster Menge kommen sie, wie zuerst Traube nachgewiesen hat, im frischen Urin in denjenigen Fällen zur Beobachtung, bei denen nach dem Catheterismus die ammoniakalische Zersetzung des Urins in der Blase und in Folge dessen Cystitis eingetreten ist. Dann finden wir im Urin neben grossen Mengen Tripelphosphat, lymphoiden Zellen etc. massenhafte Schwärme von Stäbchen und Körnern, die mit den basischen Anilinfarben intensiv gefärbt werden und oft in grossen Zoogloeahaufen zusammengeballt sind. In diesen Fällen wandern die Schizomyceten, deren Keime durch den Catheter in die Blase hinein gelangt sind, sehr oft durch die Ureteren bis in das Nierenbecken

und das eigentliche Nierenparenchym hinein und finden sich dann im Innern der pyelonephritischen Abscesse. (Klebs.)

Bei verschiedenen Infectionskrankheiten, besonders bei metastasirenden Eiterungen, gelangen die Organismen aus dem Blute in den Urin, wie man mit Sicherheit nachweisen kann; indessen sind noch wenig zuverlässige, klinische Untersuchungen hierüber bekannt geworden.

Diejenigen Formen der Schizomyceten, welche das den Harnstoff zersetzende Ferment liefern, gehen niemals, soweit bis jetzt bekannt, aus dem Blute in das Nierensecret über (wahrscheinlich wohl deshalb, weil sie im Blute nicht vorhanden sind), sondern werden stets von aussen eingeführt. Dagegen müssen sie im Verdauungskanal vorhanden sein, denn der in den Darmkanal gelangte Harnstoff (in Fällen von Urämie) wird sehr bald in kohlensaures Ammoniak umgewandelt.

Die Trippermicrococcen, die bei Cystitis gonorrhoica im Urin vorhanden sind, zersetzen den Harnstoff nicht.

Bei Tuberkulose der Nieren und der Harnwege sind die Tuberkelbacillen in mehreren Fällen im Urin, auch beim Lebenden, constatirt und zur Diagnose benutzt worden. Die Prognose der tuberkulösen Erkrankungen des Harnapparats ist in den meisten Fällen eine sehr ungünstige.

5. Secrete des Genitalapparats.

a. Vaginalsecret.

Das Vaginalsecret besteht aus einer Flüssigkeit, in der mehr oder minder reichliche, grosse, unvollständig verhornte Plattenepithelzellen und ausserdem Rundzellen vorhanden sind. Die letzteren sind von verschiedener Grösse, von der Grösse der weissen Blutkörperchen an bis zu vierfach bis fünffach grösseren Formen; die grösseren Rundzellen enthalten meist reichliche Fettkörnchen.

Microorganismen kommen in dem Scheidensecret in grosser Zahl vor; ebenso wie in der Mundhöhle sind hier alle Bedingungen für eine reichliche Entwickelung schädlicher und unschädlicher Parasiten gegeben.

Zu den unschädlichen Parasiten gehört jedenfalls der von Donné im Scheidenschleim entdeckte Trichomonas vaginalis, ein mit Geisselfäden und Wimperhaaren versehenes, lebhaft bewegliches Infusorium.

Winter[1]) fand 27 verschiedene Spaltpilze, unter denen Staphylococcus pyog. alb., aureus und citreus wie die Streptococcen in einem abgeschwächten Zustand sich befanden.

Auch Schimmelpilze kommen auf der Vaginalschleimhaut vor, besonders bei Schwangeren; wenn sie in grösseren Mengen sich entwickeln,

[1]) Die Mikroorganismen im Genitalkanal der gesunden Frau. Zeitschrift für Geburtshülfe und Gynäkologie, Bd. XIV.

so bedingen sie weissliche Plaques und leichte Entzündung der Schleimhaut. Nach Haussmann ist es Oidium albicans, der Soorpilz, durch Infection mit demselben kann der Soor der Neugeborenen entstehen. Ueber die Trippermicrococcen siehe unter b) Uterinflüssigkeiten.

b. Uterinflüssigkeiten.

Microorganismen.
Dysmenorrhoische Membranen.
Decidualfetzen.
Die Diagnose des Uteruscarcinoms.

Die normale Tuba und das Cavum Uteri sind meist frei von Organismen. Das Secret des Cervix enthält dagegen stets Keime. Die in einzelnen Fällen in der Uterushöhle gefundenen Organismen waren Streptococcen, Staphylococcus alb. und aureus. Im Cervix fanden sich Bacillen und Coccen. (Winter.)

Die aus dem Uterus entnommenen Lochien sind normal keimfrei. Häufiger kommen bei fiebernden Wöchnerinnen in den Lochien des Uterus Keime vor (Streptococcus pyogenes). Nach Abfall des Fiebers werden die Lochien wieder keimfrei. (Döderlein.[1])

Gonococcen wurden im Cervix, Cavum Uteri und den Tuben beobachtet. In wie weit eitrige Entzündung in den Bartholin'schen Drüsen, dem Uterus und den Tuben auf eine Infection mit Gonococcen oder auf Mischinfectionen mit diesen und anderen Organismen oder letztere allein (Staphylococcen, Streptococcen) zurückzuführen sind, bedarf noch eingehender Untersuchungen.[2]) Die bei eitriger Salpingitis gefundenen Organismen sind oft abgeschwächt.

Als Ursache einer diphtherischen Endometritis fand Weichselbaum den Diplococcus der Pneumonie.

Ausser dem normalen Schleimpfropf des Collum uteri, welcher nur spärliche, lymphoide Zellen enthält, finden wir bei entzündlichen Zuständen ein flüssiges, oft eiterartiges Secret der Uterinschleimhaut, in welchem ausser lymphoiden Zellen auch reichliche Cylinderzellen meist ohne Flimmersaum vorkommen.

Die Menstrualflüssigkeit besteht hauptsächlich aus Blut; das Lochialsecret enthält ausserdem reichliche Elemente der Eihautreste,

---

[1]) Döderlein, Untersuchungen über das Vorkommen von Spaltpilzen in den Lochien des Uterus und der Vagina gesunder und kranker Wöchnerinnen. Arch. f. Gynäkologie, Bd. 31. 1888.

[2]) Orthmann berichtete über eine Salpingitis purulenta gonorrhoica. Berliner klinische Wochenschrift, 1887. Vgl. E. Finger, Die Blennorrhoe der Sexualorgane und ihre Complicationen. Leipzig u. Wien, 1889.

besonders der tiefsten Decidualschicht, welche post partum im Uterus zurückbleibt. Besonders charakteristisch sind die Epithelzellen der untersten Drüsenenden mit ihrem hellen, fast vacuolenartigen Kern.

Waren Theile der Placenta zurückgeblieben, so finden sich in den Lochien oft auch kleinere oder grössere Placentastückchen; die Structur und Form der baumförmig verästelten Placentazotten (Chorionzotten) ist so charakteristisch, dass man sie stets sofort als solche erkennt. Häufig kommt es in solchen Placentaresten zur Kalkincrustation, so dass dann zuweilen selbst feste Concremente aus der Uterushöhle ausgestossen werden; die histologische Untersuchung derselben giebt sofort ihre Herkunft zu erkennen.

Bei gewissen Formen von Dysmenorrhoe kommt es bekanntlich zur Ausstossung von Membranen, oft unter wehenartigen Schmerzen. Die Untersuchung dieser dysmenorrhoischen Membranen ergiebt regelmässig, dass sie Stücke der Uterinschleimhaut selbst darstellen; auch die schlauchförmigen Drüsen und ihre Oeffnungen an der Innenfläche sind daran zu constatiren. Man nannte solche Membranen früher meist: „Decidua menstrualis“ und discutirte wohl auch die Frage, ob es sich in diesen Fällen nicht eigentlich um einen Abortus in den ersten Wochen der Schwangerschaft handele. Ob dies der Fall ist, oder nicht, entscheidet die histologische Untersuchung. Denn die histologische Structur der Decidua graviditatis, d. h. der durch Gravidität veränderten Uterusschleimhaut, ist eine sehr deutlich verschiedene und für den Process der Gravidität vollkommen specifisch. Das Interglandulargewebe der Uterusschleimhaut besteht nämlich, soweit bisher bekannt, unter allen Umständen, wie bei der menstruellen Schwellung, ebenso in den dysmenorrhoischen Membranen bei den verschiedensten Formen der Endometritis, bei der Schwellung der Schleimhaut in Folge von Uterusmyomen etc., stets aus kleinen Rundzellen von der Grösse der Lymphoidzellen, mit sehr wenig Protoplasma. Nur allein die Gravidität bewirkt eine charakteristische Veränderung der Zellen, wir finden schon im ersten Beginn der Schwangerschaft in der geschwollenen Uterusschleimhaut die bekannten grossen Decidualzellen fünf- bis zehnmal grösser als Lymphoidzellen, mit reichlichem Protoplasma versehen, rundlich oder polygonal, auch mit Fortsätzen versehen. Diese Grösse und Gestalt behalten dann die Zellen der Decidua bis zum Ende der Schwangerschaft; das Gewebe der Decidua ähnelt, wenn man von den Drüsen absieht, manchen Formen von grosszelligen Sarcomen. Auch bei Extrauterinschwangerschaft findet bekanntlich regelmässig eine Schwellung der Uterusschleimhaut statt, oft werden auch Fetzen derselben ausgestossen; auch hier lässt sich stets der charakteristische Bau der Decidua, die grossen Zellen nachweisen. (Wyder.[1])

---

[1]) Wyder, Arch. f. Gynäkologie Bd. 13.

Wir sind demnach mittelst der Untersuchung der aus dem Uterus abgegangenen Membranen in der Lage, mit Bestimmtheit Gravidität zu diagnosticiren resp. auszuschliessen. Moericke[1]) hat dieselben Verhältnisse an Schleimhautstückchen constatirt, die er mit dem scharfen Löffel aus der Uterushöhle entfernte.

Bei Krebs des Cervix findet sich eine Wucherung der Uterinschleimhaut, welche mit Unrecht als sarcomatös bezeichnet wurde.

Carcinom oder Erosion, resp. Adenom?

Bei Carcinoma uteri finden sich oft in der von der krebsigen Ulceration abgesonderten Flüssigkeit zellige Elemente oder selbst grössere Bröckel und Fetzen suspendirt, derer mikroskopische Structur die Diagnose bestätigen hilft. In zweifelhaften Fällen dagegen, wo es sich um die Frage handelt, ob Carcinom oder gutartige Erosion, wird die Untersuchung des Secretes allein wohl niemals genügen; in solchen Fällen wird dann oft die Excision kleiner Stücke vorgenommen, durch deren histologische Untersuchung die Diagnose festgestellt werden soll. Wir wollen wegen der praktischen Bedeutung der Frage einige Bemerkungen darüber hier einschalten.

Der Grund einer Erosion besteht aus Granulationsgewebe, welches meist von einem mehrschichtigen Epithel überzogen ist; von diesem Epithel pflegen dann drüsenartige, mit Lumen versehene Einsenkungen in die Tiefe des Granulationsgewebes einzudringen, häufig aber auch solide Epithelstränge, die sich theilen und zu unregelmässigen Netzen mit einander in Verbindung treten.

Wie man sofort bemerkt, ist dies eine vollkommen krebsähnliche Structur, trotzdem kommt sie bei ganz einfachen, gutartigen Erosionen vor. Ein unvorsichtiger Beurtheiler, der hieraus ohne Weiteres einen Krebs diagnosticirt, kann damit leicht viel Unglück anrichten; er wird verstümmelnde und gefährliche Operationen in Fällen vornehmen, in denen eine Radicalexstirpation nicht indicirt ist. Es muss also noch ein anderes Moment hinzukommen, ehe man die folgenschwere Diagnose auf Krebs zu stellen hat. Die in das Granulationsgewebe secundär eindringende Epithelwucherung[2]), die oft genug vollkommen atypisch wird, ist nun nicht etwa auf die Erosionen des Uterus beschränkt, sondern kommt sehr häufig und an den verschiedensten Orten zu Stande (Haut, Leber, Lunge etc.): sie kann überall da sich entwickeln, wo Granulationsgewebe mit epithelialen Flächen in direkte Beziehung tritt. Die atypische Epithelwucherung ändert an dem Charakter der ursprünglichen Affection, welche

---

[1]) Moericke, Zeitschr. f. Gynäk., Bd. 7.

[2]) Vgl. C. Friedländer, Ueber Epithelwucherung u. Krebs. Strassburg 1877.

zur Bildung des Granulationsgewebes geführt hat, gar nichts; sie ist ein vollständig gutartiger, unschädlicher Vorgang und würde uns vom praktischen Standpunkte aus nur wenig interessiren, wenn nicht gerade die Structur der Krebse, besonders im Anfang, die vollständigste Aehnlichkeit mit den gutartigen, atypischen Epithelwucherungen hätte.

Man hat ja sogar den Krebs von histologischer Seite als „atypische Epithelwucherung" definirt (Waldeyer). Diese Definition reicht indessen nicht aus; wir müssen als nothwendige, wichtigste Eigenschaft des Krebses hinzufügen: „von bösartigem Charakter"; wir verlassen damit das rein histologische Gebiet, denn weder an der Zelle, noch an dem Gewebe ist der „bösartige Charakter" direkt zu erkennen. Trotzdem dient zum Nachweis der Bösartigkeit wiederum die mikroskopische Untersuchung; denn die Bösartigkeit des Processes ist dann erwiesen, wenn derselbe schrankenlos durch verschiedene Gewebe zerstörend hindurchwuchert, während eine gutartige Neubildung auf das Gewebe, von dem es ausgegangen ist, beschränkt bleibt und die Nachbarschaft entweder ganz unberührt lässt oder doch lediglich verdrängend wirkt.

Finden wir z. B. am Uterus den Process nicht auf die Schleimhaut beschränkt, sondern auch in der Muskulatur, finden wir diese theilweise ersetzt durch ein von atypischen Epithelsträngen durchzogenes Granulationsgewebe [1]), dann haben wir eine evidente Malignität vor uns und dann erst diagnosticiren wir mit Sicherheit auf Krebs.

Die zur histologischen Untersuchung exstirpirten Stückchen müssen also mindestens einen Theil der Muscularis mit enthalten; ohne die Erkrankung in der Muscularis nachgewiesen zu haben, können wir in den meisten Fällen die Krebsdiagnose nicht sicher motiviren.

Ruge giebt an, dass die Epithelzellenstränge beim Krebs solide, bei einfachen Erosionen dagegen mit Lumen versehen seien, und das ist sicher für viele Fälle richtig. Dieser Unterschied gilt jedoch nicht ausnahmslos und kann darum nicht zur Diagnose verwendet werden; denn einerseits haben in vielen Fällen von echtem, bösartigem Krebs die Zellenstränge das schönste, regelmässige Lumen, andererseits kommen bei gutartigen Erosionen sehr häufig solide Epithelzapfen zur Beobachtung, wie man besonders durch Leichenuntersuchungen leicht nachweisen kann.

Dieselben Grundsätze der Beurtheilung sind auch bei allen anderen Organen zu befolgen; so lange wir atypische Epithelneubildungen an Orten vorfinden, wo von vornherein schon Epithel vorhanden ist, also in der Cutis, den Schleimhäuten, allen echten Drüsen etc., werden wir stets noch den besonderen Nachweis der Bösartigkeit zu führen haben, ehe wir die Diagnose auf Krebs stellen. Finden wir indessen die atypischen Epithel-

[1]) Das Stroma in jungen Krebsgewächsen ist ja gewöhnlich Granulationsgewebe.

stränge anderwärts, z. B. in der Muskulatur[1]), im Knochen, in Lymphdrüsen, so ist dadurch eo ipso direkt der fressende, resp. der metastasirende Charakter der Affection gegeben und wir diagnosticiren nothwendig auf Krebs.

Manche Autoren benutzen den Terminus Epitheliom synonym mit Krebs. Es ist aber jedenfalls richtiger, den Ausdruck „Epitheliom" als allgemeinen Begriff für epitheliale Tumoren aller Art festzuhalten und für die bösartigen unter ihnen dann den Ausdruck „Krebs" zu gebrauchen. Den Ausdruck „Adenom" wendet man am besten lediglich für gutartige Wucherungen an.

Wir kennen die Ursache der Malignität der Krebse bis jetzt noch nicht, trotzdem sind wir in der Lage, auf Grund tausendfältiger Erfahrung überall da, wo die Diagnose „Krebs" (nach den eben ausgeführten Principien) gestellt werden muss, sofort mit grosser Sicherheit die lethale Prognose zu stellen; wenn nicht eine totale Exstirpation vorgenommen wird, geht der Kranke in kürzester Zeit, binnen wenigen Jahren, zu Grunde. Von dieser empirischen Regel giebt es nur sehr selten Ausnahmen; es kommen z. B. gewisse Formen flacher Hautkrebse (Ulcus rodens) vor, die einen sehr protrahirten Verlauf nehmen können.

Andererseits ist man im Stande, das Vorhandensein einer unmittelbaren Gefahr auszuschliessen, wenn die oben auseinander gesetzten Kriterien der Malignität fehlen; dass zuweilen aus einer ursprünglich gutartigen Neubildung, einem Adenom des Cervix z. B., späterhin ein Krebs entstehen kann, ist natürlich nicht unmöglich, indessen liegt eine bestimmte Gefahr nur dann vor, wenn der bösartige Charakter der Affection nachgewiesen ist.

Die Diagnose kann unter Umständen schwierig werden, wenn zu einem an sich destructiven Process, z. B. zu einer syphilitischen oder tuberkulösen Ulceration secundär eine atypische Epithelwucherung sich gesellt; in solchen Fällen ist besondere Vorsicht geboten, am besten wartet man zunächst den Effekt einer energischen, lokalen Therapie ab.

c. Trippersecret.

Im gonorrhoischen Eiter hat Neisser[2]) eine specifische Micrococcenart gefunden, die zumeist in kleinen Häufchen aggregirt, im Innern der Eiterkörperchen gelegen sind. Innerhalb der Häufchen sind sie gewöhnlich zu zwei gruppirt, und zwar in der Art, dass der einzelne Coccus eine

[1]) In teratoiden Neubildungen können epitheliale Züge auch mitten in anderen Geweben gefunden werden, ohne dass damit ein bösartiger Charakter derselben gegeben wäre. In Myomen des Uterus sind in seltenen Fällen Cysten, die mit Flimmerepithel ausgekleidet waren, gesehen worden. (Babesiu, Diesterweg.)

[2]) Neisser, Med. Centralbl. 1879.

gewölbte und eine abgeflachte oder leicht concave Oberfläche hat und dass je zwei Coccen mit der abgeflachten resp. concaven Seite gegen einander gekehrt sind, vgl. Fig. VII. Die Coccen sind relativ gross; ihre charakteristische Form und Lagerung dient zur Diagnose.

Auch im Secret der gonorrhoischen Blenorrhoe der Conjunctiva findet man die charakteristischen Coccen (s. S. 127 und 187).

d. Sperma und Prostatasecret.

Im Sperma finden sich die höchst charakteristischen, lebhaft beweglichen Spermatozoen; auch an eingetrocknetem Sperma (Samenflecken) sind sie durch Aufweichen in Kochsalzlösung meist noch sehr gut nachzuweisen. Findet man in zweifelhaften Fällen kleine glänzende Körperchen von dem Aussehen der Köpfe von Spermatozoen und andererseits feine Fädchen von dem Aussehen der Schwänze, aber keine zusammenhängenden Spermatozoen, so lasse man sich ja nicht verleiten, aus den gefundenen Bruchstücken einen positiven Schluss zu ziehen. Solche kleine Körperchen resp. Fädchen sind an trockenen Flecken irgend welcher Art leicht darzustellen und können jede beliebige, andere Herkunft haben; nur, wenn man vollständige Samenkörper mit Kopf und Schwanz in continuo nachweisen kann, ist die Natur des Samenfleckes sicher erkannt.

Vermisst man in dem Samen die Spermatozoen, so ist zu beachten, dass die temporäre von der bleibenden Azoospermie (Sterilitas masculina) unterschieden werden muss; werden rasch hinter einander mehrere Ejaculationen provocirt, so ist die Flüssigkeit zuletzt, nach Angabe mehrerer Beobachter, ganz frei von Spermatozoen. Das Hodensecret ist dann temporär erschöpft, die ejaculirte Flüssigkeit stammt nur aus den Samenblasen, Prostata etc.

Das Prostatasecret isi meist dem Sperma beigemengt, zuweilen wird es bei Druck auf die Prostata, bei Stuhlgang etc. auch für sich entleert. Es enthält ausser den geschichteten Amyloidkörpern oft eine grosse Zahl von octaëdrischen oder lanzettförmigen Krystallen, welche, ebenso wie Asthmakrystalle im Bronchialsecret, das phosphorsaure Salz einer organischen Base, der sogenannten Schreiner'schen Base, darstellen. Sie sind seit langer Zeit im Sperma als Spermakrystalle bekannt; Fürbringer[1]) hat nachgewiesen, dass sie von dem beigemengten Protastasecret herstammen und dass sie die Träger des charakteristischen Samengeruchs sind. Oft sind sie schon in frisch entleertem Samen, resp. Prostatasecret nachzuweisen, in anderen Fällen erst nach längerem Stehen; stets entstehen sie in grosser Menge, wenn man zu Sperma oder Prostatasaft phosphorsaures Ammoniak zusetzt.

---

[1]) Fürbringer, Zeitschr. f. klin. Med, Bd. 3.

6. Magen- und Darminhalt.

Die mikroskopische Untersuchung des Erbrochenen und der Stuhlentleerungen ist schon seit langer Zeit geübt worden und ergiebt in vielen Fällen wichtige diagnostische Anhaltspunkte.

a. Speisereste

finden sich naturgemäss stets in grosser Menge. Bei Fleischnahrung kommen quergestreifte Muskelfasern regelmässig auch im Stuhlgange vor (Frerichs); ebenso die Cellulose-Membranen bei vegetabilischer Kost; während die Stärke unter normalen Verdauungsverhältnissen in den Faeces nicht oder nur in ganz geringen Mengen enthalten ist; schon im Magen ist ein grosser Theil der Amylumkörner vollständig extrahirt; sie färben sich dann mit Jod nicht mehr blau, sondern nur leicht gelb.

Sobald Stärke in irgend erheblicher Menge in den Darmentleerungen gefunden wird, liegt ein pathologischer Zustand, meist mit Diarrhoe verbunden, vor.

Sehr resistent den Verdauungseinflüssen gegenüber verhalten sich von animalischen Nahrungsbestandtheilen besonders Sehnen, Aponeurosen, Stücke von grossen Arterien etc.; es sind nicht nur Geisteskranke oder besonders gefrässige Individuen, in deren Stuhlabgängen derartige Massen oft in grosser Menge gefunden werden, sondern oft genug ganz vernünftige Menschen; gar nicht selten verursachen sie dem Patienten und auch dem Arzte als sogenannte „Darminfarcte" schwere Sorge, die durch die mikroskopische Untersuchung sofort als unbegründet erkannt wird. Auch vegetabilische, unverdaute Substanzen werden oft genug entleert, Virchow hat auf das häufige Vorkommen von Apfelsinenschläuchen im Stuhlgange aufmerksam gemacht.

b. Epithelien, Schleim etc.

Die Epithel- und Drüsenzellen des Verdauungskanals werden, meist allerdings in stark verändertem Zustande, sehr häufig im Magen- und Darminhalt angetroffen, ohne dass diesem Befunde eine besondere Bedeutung zukäme.

Eine grössere Menge von Schleim, der lymphoide Rundzellen, Schleimkörperchen zu enthalten pflegt, spricht für das Vorhandensein eines Magen- resp. Darmkatarrhs. Zuweilen kommen in den Darmentleerungen neben dem Schleim auch fibrinöse Massen vor, und zwar entweder in Form von Membranen oder in Form baumförmig verzweigter und zu netzartigen Bildungen zusammentretender Stränge. Dieselben sind Produkte einer pseudomembranösen Entzündung des Colon, welche bekanntlich zuweilen in netzartiger Anordnung auftreten. Die Entleerung dieser Massen, welche ganz erhebliche Dimensionen annehmen können, ist

manchmal von starken, wehenartigen Schmerzen begleitet. Sie enthalten gewöhnlich ausser Fibrin auch Schleim, lösen sich deshalb mit Essigsäure nur theilweise auf; sonst findet man in ihnen nur Rundzellen resp. deren Reste.

c. Entozoën

kommen im Darmkanal von verschiedener Art vor, viele unter ihnen als gleichgültige Parasiten, andere dagegen von hochgefährlicher Bedeutung. Die Thiere selbst oder Theile derselben finden sich im Stuhlgang, namentlich aber sind zu ihrer mikroskopischen Erkennung in den Dejectionen die Eier zu verwerthen; in den Lehrbüchern der pathologischen Anatomie, sowie in den bekannten Werken von Leuckart, Braune und Davaine finden sich genaue Beschreibungen und Abbildungen derselben.

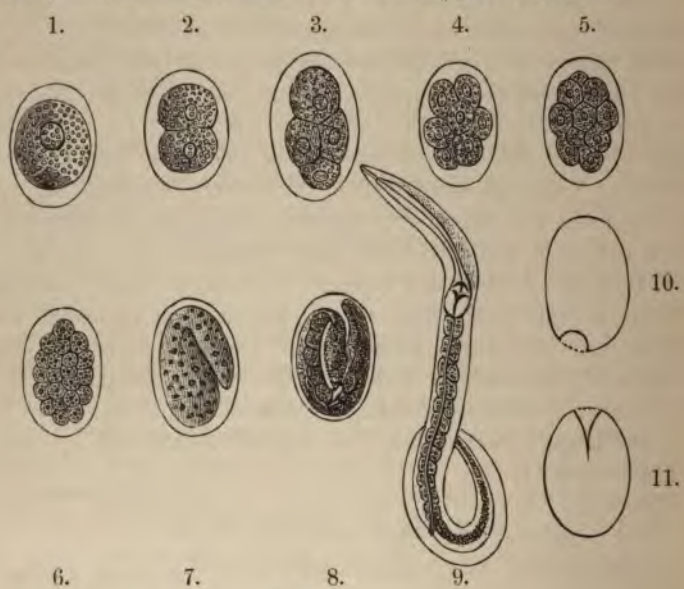


Fig. 47.
Eier von Anchylostomum duodenale.
Fig. 1—6 Furchungsprocess. Fig. 7 u. 8 Bildung des Embryo. Fig. 9 Ausschlüpfen desselben. Fig. 10 u. 11 Leere Chitinhülsen.

Im Jahre 1880 hat Perroncito die wichtige Entdeckung gemacht, dass die „Tunnelkrankheit", welche die Gotthard-Arbeiter decimirte, durch das Anchylostomum duodenale (resp. Anguillula intestinalis und Pseudorhabditis stercoralis) verursacht wird; die Eier dieser Parasiten werden im Stuhlgang der Kranken in grösster Menge gefunden und sind vollkommen charakteristisch. Auch bei der sogenannten „Anämie der Bergleute" in ungarischen Bergwerken fand er dieselben Parasiten. Leichtenstern hat sie bei Ziegelarbeitern am Rhein nachgewiesen.

Die Eier sind in den Faeces entweder noch ungefurcht, oder enthalten 2—4 oder noch mehr Furchungskugeln (vgl. den Holzschnitt Fig. 1—6). Lässt man die Faeces bei Luftzutritt einen bis drei Tage stehen, am besten bei 25—30° C., so kann man leicht die vollständige Entwickelung des Embryo und das Ausschlüpfen desselben aus der Chitinhülle des Eies beobachten. (Fig. 47, 7—11.)

Vielleicht ergiebt eine sorgfältige Untersuchung der Stuhlgänge auch über andere bisher räthselhafte Erkrankungen neue Aufklärung.

d. Pflanzliche Parasiten.

Im Mageninhalt, besonders in Fällen von Gastroectasie, kennt man seit langer Zeit die Sarcine; eine klinische Bedeutung kommt ihr nicht zu. Von sonstigen pflanzlichen Parasiten kommen Micrococcen, Bacillen etc. im Magen meist nur in geringer Menge vor, dagegen oft sehr reichliche Massen von Hefepilzen.

Im Darminhalt und den Stuhlentleerungen sind ebenfalls Hefepilze, besonders aber die Micrococcen und Bacillen äusserst massenhaft zu finden, grosse und kleine; von den Stäbchen werden gewisse Formen als Bacillus subtilis (Ferd. Cohn) bezeichnet; unter dem Gewirr dieser kleinen Organismen sind specifische, pathogene Formen (mit Ausnahme der Tuberkelbacillen mit ihrem charakteristischen Verhalten gegen die Färbungsmethoden) bis jetzt noch nicht zu unterscheiden.

Mehrere Formen von Organismen kommen im Darminhalt vor, die sich auf Jodzusatz bläuen; von besonderem Interesse ist das Clostridium butyricum (Prazmowsky[1]), welches im unteren Ileumabschnitt und im Colon (indessen nicht in den oberen Partien des Darmkanals) besonders bei Pflanzennahrung in grosser Menge gefunden wird (Nothnagel[2]). Ihre Grösse ist wechselnd, etwa wie die der Hefepilze, auch die Form ist verschieden; entweder sind es Stäbchen, oft mit einseitig oder beiderseitig ausgezogener Spitze, oder sie sind elliptisch oder endlich spindel- bis citronenförmig gestaltet; oft sind sie in Ketten oder in Haufen zusammen gelagert. Mit Jod werden sie entweder in der Totalität blau gefärbt, oder nur ihr mittlerer Theil, so dass die Pole oder die ganze Peripherie nur gelbliche Färbung erhalten. Sie sind wahrscheinlich identisch mit Bacillus amylobacter (van Tieghem) und stellen wohl das Ferment für die im Darminhalt eintretende Buttersäuregährung dar.

Auch noch kleinere mit Jod sich bläuende Formen hat Nothnagel in den Stuhlentleerungen nachgewiesen.

---

[1]) Prazmowsky, Untersuchungen über Entwickelungsgeschichte und Formenentwickelung einiger Bacterienarten. Leipzig, 1880.

[2]) Nothnagel, Zeitschrift f. klin. Medizin, Bd. 3.

Die Tuberkel-Bacillen sind im Darminhalt und dem entsprechend in den Faeces sehr häufig zu finden, und zwar in Fällen von tuberkulösen Darmgeschwüren. Auf dem Grunde dieser Geschwüre finden sich regelmässig massenhafte Tuberkel-Bacillen, die dann dem Darminhalt beigemengt werden und bei Untersuchung der Faeces zur Diagnose benutzt werden können (Lichtheim und Giacomi, Fortschr. d. Med. 1883, S. 3 und 150). Es ist nur zu berücksichtigen, dass herabgeschluckte Sputa von Phthisikern ebenfalls eine Beimischung von Tuberkelbacillen zu den Faeces bewirken können; in jedem Falle ist durch den betreffenden Befund eine tuberkulöse Erkrankung des Organismus sicher gestellt. Die übrigen, im Darminhalt vorkommenden Bacillen entfärben sich bei der Säurebehandlung sofort; dagegen kommen grosse, in Anilingentiana färbbare Sporen in den Faeces vor. Zu diagnostischen Irrthümern können sie schon wegen ihrer kugeligen Gestalt niemals Veranlassung geben.

Bei der Cholera asiatica finden sich im Darminhalt resp. den Entleerungen in grosser Zahl die bekannten Kommabacillen; u. zw. besonders in den ersten Stadien. Auch bei Cholera nostras sind ähnliche Formen gefunden worden, die mikroskopisch nicht leicht von den echten Cholera-Bacillen zu unterscheiden sind; erst durch das Culturverfahren kann man in zweifelhaften Fällen eine sichere Entscheidung treffen.

Bei Typhus abd. kommen Typhus-Bacillen in den Dejectionen vor. Sie sind jedoch erst durch das Culturverfahren als solche nachzuweisen.

7. Exsudate. Cysteninhalt.

Die mikroskopische Untersuchung von Exsudatflüssigkeiten, Cysteninhalt und dergleichen zu diagnostischen Zwecken wird jetzt, bei der grossen Häufigkeit der Explorativpunctionen, sehr häufig vorgenommen.

So einfach die Technik derartiger Untersuchungen ist (meist handelt es sich nur um direkte Betrachtung des Bodensatzes nach den oben ausgeführten Methoden, event. um Färbung des Trockenpräparats), so schwierig ist es in vielen Fällen, den diagnostischen Werth der Befunde richtig abzuschätzen.

Fett findet sich in den Exsudaten nicht selten in grösserer Menge und bedingt dann ein opalescirendes oder milchiges Verhalten derselben. Das Fett ist zuweilen, wie im Chylus, in kleinsten, unregelmässig gestalteten, mattglänzenden Körnchen und in innigster Verbindung mit Eiweisskörpern in der Flüssigkeit enthalten, so dass man ohne Weiteres das Fett nicht als solches erkennt; erst bei Zusatz von Essigsäure oder Alkalien werden die Albuminate gelöst, und das Fett fliesst dann zu grösseren, hell glänzenden Tröpfchen zusammen. Dieser sogenannte Hydrops chylosus scheint stets nur bei Erguss von Chylus[1]) in die Bauch- resp. Brusthöhle

[1]) Vgl. Quincke, Ueber fetthaltige Transsudate. Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 16.

vorzukommen, entweder in Folge von Traumen oder von Stauung des Chylus in den Mesenterialgefässen resp. im Ductus thoracicus. In anderen Fällen rührt das Fett von zerfallenen Fettkörnchenkugeln her und ist von vorn herein in kleinen, glänzenden Körnchen als solches charakterisirt (Hydrops adiposus); dies kommt bei chronischer Entzündung, sowie Carcinosis der serösen Häute zur Beobachtung.

Es kommen übrigens auch seröse Ergüsse vor, welche lediglich durch albuminöse Körnchen eine opalescirende oder milchige Trübung zeigen.

Rothe Blutkörperchen sind in verschieden grosser Menge zu finden; oft auch in verändertem Zustande, entfärbt, geschrumpft etc.

Lymphoide Zellen fehlen fast nie, nur sind sie in einfachen Transsudaten weit weniger zahlreich, als in entzündlichen Exsudaten. Oft kann man an ihnen lebhafte, amöboide Bewegungen beobachten; in vielen Fällen allerdings sind sie bereits abgestorben, oft auch mit reichlichen Fettkörnchen versehen.

Endothelzellen sind in den Ergüssen der serösen Höhlen theils einzeln, theils in zusammenhängenden Platten zu finden, ebenfalls oft fetthaltig, oft auch zu kugelförmigen Körpern umgewandelt; sie sind mit einem oder mehreren Kernen versehen, zuweilen enthalten sie auch Vacuolen.

Epithelzellen kommen im Cysteninhalt vor, von cylindrischer, polygonaler oder platter Form; sie geben oft Anhaltspunkte zur Diagnose des Ausgangsortes der Cyste. Auch Flimmerzellen finden sich zuweilen, besonders in einkammerigen Ovarialcysten etc.

Tumorelemente, die den Exsudaten beigemengt sind, fallen meist rasch zu Boden; und zwar geschieht dies schon innerhalb des Organismus, so dass sie bei hoch oben angelegten Punctionen vollständig vermisst werden können, während sie in den tieferen Partien in Masse vorhanden sind.

Es handelt sich meist um Carcinome; die Zellen derselben charakterisiren sich durch ihre sehr ungleiche, oft sehr erhebliche Grösse, ihre grossen Kerne und die oft ganz polymorphen Formen; Vacuolen finden sich ebenfalls sehr häufig. Indessen ist es für gewöhnlich nicht gerathen, auf Grund des Befundes von einzelnen Zellen auf Krebs zu diagnosticiren; besonders der Anfänger thut besser, die Diagnose so lange in suspenso zu lassen, bis man die Zellen in Haufen, Ballen, zusammengelagert antrifft. Quincke[1]) giebt an, dass die Glycogenreaction wahrscheinlich zur Diagnose verwerthet werden kann; dieselbe tritt bei Krebszellen oft ein, während die Endothelzellen für gewöhnlich kein Glycogen zu enthalten scheinen.

Wer derartige Diagnosen stellen will, der muss vor Allem an der

---

[1]) Quincke, Ueber Ascites. Deutsch Arch. f. klin. Med., Bd. 30.

Leiche die verschiedenen Formen der serösen Ergüsse auf ihre geformten Bestandtheile durchuntersuchen; andernfalls sind Irrthümer unausbleiblich. Die Formverschiedenheit der Endothelien und der Abkömmlinge derselben bei einfachen subacuten oder chronischen Entzündungen der serösen Häute ist für den Nichtkenner oft sehr überraschend und kann leicht zu einer falschen Diagnose auf Krebs Veranlassung geben.

Die Schizomyceten in den Ergüssen sind bisher noch wenig untersucht worden; möglicher Weise giebt ein näheres Studium derselben noch wichtige diagnostische Anhaltspunkte.

Bei den die acute Pneumonie begleitenden Pleuritiden und Pericarditiden findet sich sehr oft eine massenhafte Entwickelung der kapseltragenden Pneumonie-Micrococcen, am häufigsten der Diplococcus pneumoniae. Auch Streptococcen kommen vor. Durch Punction der Lungensubstanz ist von Günther und Leyden in zwei Fällen von acuter Pneumonie der Befund von Micrococcen im Alveolar-Exsudat des lebenden Menschen erhoben worden; Günther bemerkt in seinem Falle zuerst das Vorkommen von „farblosen Hüllen" um die Pneumonie-Micrococcen.

Der Diplococcus pneumoniae ist aber auch bei Endometritis, Peritonitis und Meningitis beobachtet worden (Weichselbaum).

Von thierischen Parasiten kommen hier hauptsächlich die Echinococcen in Betracht; als sichere, mikroskopische Kriterien sind die Chitinhaken und die geschichteten Membranen zu benutzen. Oft findet man schon makroskopisch bei genauer Betrachtung des Bodensatzes die einzelnen Scolices, resp. Gruppen von solchen als weissliche Pünktchen.

VIII. Untersuchung fester Leichenbestandtheile, exstirpirter Tumoren etc.

Die mikroskopische Untersuchung von festen Leichentheilen oder von exstirpirten Tumoren etc. geschieht nach den oben dargestellten Methoden. Die isolirten Elemente werden durch Untersuchung des Saftes oder durch Schaben über die Schnittfläche, oder durch Zerzupfung, eventuell nach vorausgegangener Maceration, gewonnen. Stets legt man zu diesem Zwecke mit einem absolut reinen Messer eine frische Schnittfläche an; im anderen Falle läuft man Gefahr, durch vielfache, accidentelle Verunreinigungen der Oberfläche gestört zu werden.

Ausserdem werden von dem frischen Präparat mittelst der krummen Scheere, des Rasirmessers, Doppelmessers oder des Gefriermicrotoms Schnitte angelegt und zunächst in Kochsalzlösung untersucht; für die Färbung frischer Schnitte benutzen wir hauptsächlich das Bismarckbraun und die Jodlösung.

Die Untersuchung unserer Objekte im frischen Zustande soll stets zuerst vorgenommen werden; sie gewährt sehr viele Vortheile. Die Substanzen zeigen die natürliche Durchsichtigkeit; wir vermögen so am besten die gefundenen, histologischen Structuren auf die makroskopisch sichtbaren Differenzen zurückzuführen. Eine etwa vorhandene Verfettung kommt nur am frischen Präparat in voller Intensität zur Beobachtung.

Für alle Fälle, in denen es darauf ankommt, demonstrative, elegante Präparate, die zur Färbung geeignet sind, herzustellen, wird man stets das Gefriermicrotom verwenden. Meist gelingt es auf diese Weise, in kürzester Zeit vollständig ausreichende Präparate zu gewinnen, die direkt in Kochsalzlösung untersucht werden können; mit Bismarckbraun erhält man dann sehr schöne Kernfärbungen, mit Picrocarmin Färbung der Kerne und der Grundsubstanz. Das Präparat kommt aus dem Bismarckbraun auf kurze Zeit in Alkohol und dann in Glycerin oder in Nelkenöl resp. Canadabalsam. So kann man in eiligen Fällen binnen wenigen Minuten vom frischen Leichenorgan, sowie von exstirpirten Partien des Lebenden event. während der Operation selbst Präparate herstellen, die eine vollständige Uebersicht der Structur gewähren; unter Umständen ist das ein sehr wesentlicher Vortheil.

In manchen Fällen indessen reichen wir mit der Untersuchung des frischen Präparats nicht aus; grosse und sehr feine Schnitte von frischen Organen pflegen sich oft einzurollen und sind sehr weich und leicht zerstörbar, dass es zuweilen trotz grösster Mühe und vielen Zeitverlustes nicht gelingt, sie intact und gut ausgebreitet auf den Objektträger zu bringen. Dann tritt die Härtung in ihre Rechte. Die Härtung geschieht (abgesehen von ganz speciellen Zwecken) stets in Alkohol oder vorher in Müller'scher Flüssigkeit, nur für das Nervensystem und zuweilen für den Bulbus ist es nothwendig, von dem Alkohol als Härtungsmittel, dessen Wirkungen einfach und leicht controllirbar sind, abzugehen und die Chromsäure und deren Salze (Müller'sche Lösung) zu benutzen.

Die Alkoholhärtung geschieht am besten so, dass kleine Stücke der Substanz in grosse Mengen absoluten Alkohols eingebracht werden; auf diese Weise dringt der Alkohol in concentrirtem Zustande rasch in das Innere der Stücke ein und bewirkt durch sofortige Coagulation der Eiweisskörper eine prompte Fixirung der Gewebselemente. (Vgl. S. 30 und 68 ff.)

Die gehärteten Präparate werden dann mit dem Rasirmesser oder dem Microtom geschnitten (vgl. S. 21 ff.); man erhält mit letzterem in kurzer Zeit eine grosse Zahl von Schnitten in continuirlicher Folge. Stets geht die Untersuchung in einfachem Wasser und Glycerin voraus; dann erst kommt das Studium der Reagentien und die Färbungen. In vielen Fällen reicht eine einmalige kurze Untersuchung aus; es kommt

uns häufig nur darauf an, einen Process zu rubriciren, zu benennen; hier genügt es, ein ungefärbtes und ein mit einer beliebigen Kernfärbung tingirtes Präparat zu untersuchen. In anderen Fällen dagegen finden wir unvermuthete, oft überraschend neue Structuren und Combinationen; dann ist es gerathen, eine grosse Zahl von Schnitten in Vorrath zu machen und in Alkohol aufzubewahren. Oft finden sich noch nach längerer Zeit neue Gesichtspunkte, neue Fragen, die an den aufbewahrten Schnitten durch eine besondere Behandlung, an die man früher nicht gedacht hatte, zur Beantwortung kommen.

Was nun das Vorgehen im einzelnen Falle und die Verwerthung der Befunde für diagnostische und pathologisch-wissenschaftliche Zwecke betrifft, so würde es den Rahmen unseres Büchleins überschreiten, wenn wir dies speciell abhandeln wollten. Dazu gehört ausser dem klinischen Verständniss eine genaue pathologisch-anatomische resp. -histologische Schulung und grosse Umsicht, welche nur durch eingehende Beschäftigung mit dem Gegenstande erworben werden kann. Als Hauptgrundsatz darf hingestellt werden: Niemals einen Befund als einen pathologischen anzusehen, ohne jedesmalige directe Vergleichung mit dem normalen Organ, bei derselben Behandlung. Die Nichtbeachtung dieses Grundsatzes, der eigentlich ganz selbstverständlich klingt, hat der Wissenschaft schon viele, grobe Irrthümer gebracht und führt im praktischen Falle oft zu den schwersten Missgriffen. Vielfach sind auch neue Thatsachen der Normalhistologie auf dem Wege der pathologischen Untersuchung gefunden worden; die neuen Befunde imponirten zunächst als pathologische, man versuchte sie als Ursache resp. Producte einer bestimmten Erkrankung zu deuten, bis man später zu der Erkenntniss kam, dass es sich um vollständig normale, früher übersehene Structuren handelte. Dies war z. B. mit den Fettkörnchenzellen der Fall, welche in dem Centralnervensystem älterer Föten und neugeborener Kinder gefunden werden; Virchow hielt sie zuerst für Zeichen einer Encephalitis, bis dann späterhin durch Jastrowitz und Flechsig der Nachweis geliefert wurde, dass sie als nothwendige Zwischenglieder zu der normalen Entwickelung der weissen Substanz gehören.

Sehr häufig haben wir es bei pathologischen Befunden mit quantitativen Abweichungen von der Norm zu thun; z. B. mit Wucherung der Kerne, Trübung des Protoplasmas (welches schon in der Norm eine gewisse Trübung zeigt), Atrophie, Verkleinerung der Zellen. Es liegt auf der Hand, dass zur Feststellung derartiger gradueller Unterschiede die directe Vergleichung mit dem genau identisch behandelten normalen Organ unentbehrlich nothwendig ist.

Weiterhin finden wir sehr oft Dinge, die nicht eigentlich normal sind und doch fast keinen pathologischen Werth besitzen: subnormale Befunde. Dahin gehört vor Allem die grosse Zahl der senilen, degenerativen Ver-

änderungen, welche, so lange sie nicht in übermässiger Weise auftreten, nahezu gleichgültig sind. Man wird sie jedenfalls zu beachten haben, ohne ihnen aber einen allzu hohen Werth beizumessen.

Die räumliche Ausdehnung der pathologischen Affection spielt dann für die Beurtheilung der pathologischen Dignität und klinischen Bedeutung derselben oft eine sehr grosse Rolle. Der Anfänger ist häufig geneigt, die Bedeutung seiner Befunde zu hoch anzuschlagen und beispielsweise eine Veränderung, die über ein ganzes Gesichtsfeld des Mikroskops sich erstreckt, für eine sehr ausgedehnte zu halten. Nur vielfältige Untersuchungen können den Anfänger in dieser Hinsicht vor fehlerhaften Schlüssen bewahren; erst allmälig lernt man durch Untersuchung verschiedener Stellen des Organs, besonders auch durch stete Combination mit genauer, makroskopischer Prüfung sowie systematische Verwendung der schwachen Vergrösserung, die quantitative Ausdehnung des Processes über das Organ richtig beurtheilen. Findet man z. B. in einer Niere mehrere geschrumpfte Glomeruli, so schliesse man daraus nicht ohne Weiteres: die Glomeruli sind geschrumpft, sondern man stelle zunächst fest, wie viele (procentisch) Glomeruli verändert, wie viele normal geblieben sind; ob die Affection eine diffuse, über das ganze Organ gleichmässig verbreitete oder eine herdförmige ist, event. ob die Herde mehr oder minder zahlreich und die dazwischen liegenden Partien ganz normal geblieben, oder auch ihrerseits nicht ganz unverändert erscheinen. Ist nur ein kleiner Theil des Organs verändert, so kann die Affection, obwohl an der einzelnen Stelle von grosser Intensität, doch von ganz unerheblicher klinischer Bedeutung sein: man erinnere sich daran, dass sogar die plötzliche Entfernung einer ganzen Niere von einem sonst normalen Organismus ohne erhebliche Störung vertragen wird.

Andererseits kann eine direkt viel weniger auffällige Veränderung, wenn sie diffuse über das ganze Organ verbreitet ist, für die Function desselben und damit auch für den Gesammtorganismus von ganz deletären Folgen begleitet sein. Das ist z. B. der Fall bei der Glomerulonephritis: diese Affection charakterisirt sich durch Kernwucherung in den Glomerulusschlingen und Undurchgängigkeit derselben; hierdurch wird der Blutstrom in der Niere in hohem Grade geschädigt, event. sogar auf ein Minimum reducirt. Der Ungeübte kann diese hochwichtige Alteration sehr leicht vollständig übersehen, während der Kenner durch den Contrast der blutleeren, dabei grossen Glomeruli gegen die mit Blut gefüllten Capillaren der Rinde und des Marks sofort auf die Veränderung aufmerksam gemacht wird.

Was die Genese der Processe betrifft, so muss man sich der vorliegenden Schwierigkeiten und Complicationen stets bewusst bleiben: wir sehen nur das Gewordene, nicht das Werden, und ein direkter Schluss von dem ersteren auf das letztere ist ohne weiteres nicht zu ziehen. Seitdem

das Locomotionsvermögen der Zellen, die Auswanderung der weissen Blutkörperchen etc. bekannt geworden sind, pflegt man in dieser Beziehung sich so reservirt wie möglich zu verhalten, um so mehr, als ein unmittelbares, praktisches Interesse diesen Fragen gewöhnlich nicht zukommt. Vor etwa 20 Jahren glaubte man in diesem Punkte viel weiter zu sein, als wir es heute sind; damals wurde stets schon dem Anfänger eingeschärft, z. B. bei Geschwülsten zunächst die „Genese" derselben festzustellen. Der Sinn dieses (im eigentlichen Sinne genommen vollständig unmöglichen) Verlangens war der, dass die Uebergänge des krankhaften in das normale Gewebe studirt werden sollten, und nach dieser Richtung hin ist es auch heute noch in vielen Fällen geboten, zu untersuchen. Nur soll man sich nicht einbilden, mit der Feststellung der Uebergangsformen sofort auch die Entwickelungsgeschichte gefunden zu haben; dabei würden die schwersten Irrthümer vorkommen und sind erfahrungsmässig oft genug passirt.

Ueber die Beurtheilung der Malignität von Tumoren siehe S. 189 ff.

Die Untersuchung auf Schizomyceten in Schnitten ist S. 113 u. ff. behandelt worden.

Druck von W. & S. Loewenthal in Berlin C., Grünstr. 4.

Personen- und Sach-Register.

Abbe 2, 4, 7.
Abbe'scher Apparat 2.
Abscesse 180, 181.
Achsencylinder 87.
Actinomycespilz 142. 181.
Aether 70.
Albrecht 164.
Albuminate 68, 69, 71, 72, 73.
Alkohol 30, 31, 68, 69.
„ Härtung 199.
Drittelalkohol nach Ranvier 69.
Alcalien 80.
Amoeboide Bewegung 147.
Almquist 163.
Amyloid 85.
Amyloidfärbung durch Jod 108.
„ durch violette Anilinfarben 108.
Andeer 38.
Anilin 78, 79.
Anilinblau 98.
Anilinschwarz 98.
Anilinwasser-Gentianaviolett 119.
Anchylostomum duodenale 194.
Ameisensäure 34.
Apathy 52, 94.
Arnold 61, 143.
Aspergillus 179.
Asthma-Crystalle 166, 173.
Ausstrichpräparate 125.
Azoospermie 192.

Babes 110, 116, 117.
Babesiu 191.
Bacillus 115.
des Abdominaltyphus 140, 163, 196.
amylobacter 195.
Bacillus capsulatus 165.
„ des Carcinoms 141.
„ der Cholera asiatica 140, 196.
„ endocarditidis griseus 165.
„ der Fäulniss 131.
„ foetidus 165.
„ des grünen Eiters 127.
„ der Lepra 138.
„ des malignen Oedems 131.
„ des Milzbrandes 130, 163.
„ des Rhinoscleroms 130.
„ des Rotzes 138.
„ subtilis 195.
„ der Syphilis 139.
„ der Tuberkulose 131, 163, 173, 181, 186, 196.
„ der Xerosis 141.
Balfour 48.
Balsam 45.
Damar- 63, 80.
Canada- 63, 65, 80.
Baranski 142.
Barfurth 84.
Barytwasser 39.
Baumgarten 110, 113, 121, 137.
Bechergläser 16.
Benda 33, 34, 94.
Benda's Fixationsflüssigkeit 33, 34.
Bénèche 5, 6.
Benzin 47, 52, 56.
Bergerhoff 12.
Berlinerblau 57.
Bernard 84.
Bleistift 9.
Blendscheibe 15.
Blendung, Cylinder- 1.

Bismarckbraun 105, 119.
Bizzozero 89, 110, 146, 171.
Blochmann 42.
Blut 155.
„ färbung nach Ehrlich 158.
„ flecke 165.
„ körperchen rothe 67, 68, 197.
weisse 65.
Zählung 156.
„ plättchen 146.
„ zellen eosinophile 160.
Bock 84.
Bockmühl 12.
Bollinger 181.
Boraxcarmin 90.
Born 52, 54.
Böhmer 92.
Böttcher 162.
Braune 194.
Brieger 139.
Brown 152.
Buhl 171.
Bürkner 13.

Camera lucida 11, 12.
Campher 74.
Cantani 128.
Carbolfuchsin 120.
Carbolmethylenblau 120.
Carmin 58, 87.
Carminalaun 91.
Carminammoniak 87.
Carminleim 58.
Celli 163.
Celloidin 41, 42, 52.
Centralnervensystem 74, 85.
Chantemesse 140.
Charcot 175.
Chloroform 46, 47, 56, 70, 71.
Chlorpalladium 88.
Cholestearin 86.
Chlostridium butyricum 195.
Chromsäure 31, 32, 74.
Chrom-Essigsäure 33.
Chrom-Osmiumsäure 33.
Coccen der Fäulniss 128, 179.
Cochenille-Alaunlösung 91.
Cohn 195.
Cohnheim 61, 101, 106, 175.
Cole 40.
Collodium 42.
Cornea 144.
Cornil 108.
Corpora amylacea 84, 85.
Cuccati 90.
Curschmann 108, 173.
Curschmann's Spiralen 174.
Cystin 183.
Czokor 91.

Dahlia 105.
Davaine 19, 163.
Deciduafetzen 188.
Deckglaspräparate 125, 126.
Deckgläschen 16, 72.
Delafield 93.
Demarbaix 110.
Deneke 141.
Destillirtes Wasser 67.
Diplococcus der Pneumonie Fraenkel's 128, 129, 164, 181, 187, 198.
Diphtherieorganismus 128.
Diesterweg 191.
Distoma haematobium 163, 185.
Dittrich 130.
Donné 186.
Doppelfärbung 117, 118.
Doppelmesser 21.
Doutrelepont 139, 140.
Döderlein 187.
Drasch 102.
Drehscheibe 62.
Dunkelkasten 15.
Duval 43.
Dysmenorrhoische Membranen 188.

Eberth 108, 145, 146, 155, 162.
v. Ebner 37.
Echinococcus 185, 198.
Edinger 100.
Ehrlich 81, 82, 84, 92, 107, 131, 153, 158, 160, 161, 162.
Eichhorst 163.
Einbettung 40—48.

Einhorn 160, 161.
Einfach chroms. Ammoniak 75.
Einsatznäpfchen 18.
Eiter 179.
Eiweiss 41, 42, 52.
Elastische Fasern 172.
Emmerich 141.
Endothelzellen 197.
Entfärbungsmittel 118.
Entkalkungsflüssigkeit 37, 38, 71.
Eosin 97.
Epithelzellen 197.
Erlicki 32, 74.
Erlicki'sche Flüssigkeit 74.
Ernst 116, 127, 136, 140, 141.
Essentielle Anämie 163.
Essigsäure 34, 71, 72.
Etiquetten 17.
Exsudate 196.

Farben 12.
Färbetechnik 80.
Färbung der Sporen 115, 116.
Farrant'sche Mischung 62.
Fette 68.
  Entfettung 70, 71.
Fettkörnchenzellen 179, 185.
Feuchte Kammer 148.
Fibrinausgüsse 172.
Filaria sanguinis 163, 185.
Finger 187.
Finkler 141.
Fixiermischung von Kultschitzky 32.
Flechsig 200.
Flemming 33, 109.
Flemmings Chromosmium - Essigsäure-Gemisch 33.
Flemming'sche Methode 109.
Flesch 33.
Floegel 52.
Flügge 113.
Flüssigkeiten 147.
Francotte 48, 52.
Fraenkel 79, 113, 120, 136, 181.
Frenzel 52.
Frerichs 193.
Frey 56—58.
Friedländer 86, 88, 92, 114, 129, 174, 189.
Frisch 102, 130.
Frobenius 114.
Fuchsin 105, 119.
Fürbringer 192.

Gabbet 136.
Gaffky 115.
Gelatine 52.
Gentianaviolett 105, 119.
Gerinnung 68.
Gerlach 86, 87.
Giacomi 132, 139, 196.
Giesebrecht 52.
Glycerin 42, 50, 61, 65, 69, 76.
  Leim 62.
Glycogen 84.
Glas-Bänkchen 16.
  „ Behälter 16.
  „ Büchsen 17.
  „ Dosen 16, 17.
  „ Glocken 16.
  „ Näpfe 17.
  „ Platten 16.
  „ Röhren 16.
  „ Schalen 16.
  „ Stäbe 16, 65.
Gold 101.
  Chlorgold 102.
Golgi 100, 101, 103.
Gollasch 158, 170, 173.
Gonococcus 127, 181, 186, 187, 191.
Gottstein 118.
Gram 121, 122, 154.
Gram'sches Verfahren 109, 121, 122.
  Kühne's Modification desselben 123.
Grenacher 83, 90, 91.
de Groot 26.
Gudden 25, 42.
Gummi 41, 42, 52, 53.
Gummischleim 40, 70.
Guttapercha 52.
Guttmann 171.
Günther 198.
Gyps 183.

Hamilton 40.
Harncylinder 183.

Harngährung, ammoniakalische 182.
Harngries 183.
Harnsaures Ammoniak 182.
Harnsaure Salze 182.
Harting 86.
Hartnack 5, 6.
Harze 80.
Harzstifte von Faber 17.
Hausenblase 42.
Haussmann 187.
Hämatoidincrystalle 166, 180.
Hämatoxylin 91.
„ Böhmer's 92.
„ Delafield's 93.
„ Ehrlich's 92.
„ Friedländer's 92.
„ Färbung nach Benda 93.
„ „ „ Heidenhain 93.
„ „ „ Weigert 95.
„ Eosin 94.
„ Eosinlösung von Renaut 95.
Hämincrystalle 165.
Hämoglobin 166.
Hängender Tropfen 148.
Hänsch 5, 7.
Härtung 68, 69, 74.
Heidenhain 34, 61, 75, 93.
Henle 73, 88, 183.
Hering'sche Maschine 59.
Heschel 108.
Hesse 37.
van Heurck 80.
Hofmann 84, 182.
Holzschnitte 11.
Howship 180.
Howship'sche Lacunen 180.
Hydrops chylosus 196.
adiposus 197.
Hoyer 58.
Hüppe 113.
Hyalin 77, 86.

Jaffé 84.
Jastrowitz 200.
Injectionsspritzen 59.
Jod 83.
Jodalkohol 34.
Jodgrün 109.
Isolirte Bakterienfärbung 117.
Isolirte Kernfärbung 90.
Israel 5, 142, 181.
Jung 26, 27.
Jürgens 108.

Kalkeinlagerungen 75.
Kalkwasser 39.
Kalilauge 39, 75.
Kali aceticum 78.
Kalimethylenblau 119.
Kautschuk 52.
Kernfärbung 105.
Kern- und Bakterienfärbung 117.
Kernlose Zellen 106.
Kernschwarz 98.
Kerntheilungsfiguren, deren Färbg. 109.
Klebs 74, 112, 162, 186.
Klein 129.
Knochensystem 88.
Koch 2, 81, 82, 112, 115, 131, 151, 153, 175.
Kochsalzlösung 68, 71.
Kochs-Wolz 13.
Kohlensaurer Kalk 183.
Kolben 16.
Kollmann 58.
Kolophonium 80.
Koristka 7.
Kreosot 78.
Krysinki 42.
Kultschitzky 32.
Kunstproducte 65, 73.
Kupfervitriol 69.
Kühne 36, 37, 113, 115, 118, 120, 123, 135.
Künstliches Serum 68.

Lacke 62.
„ Asphalt- 62.
„ Bernstein- 62.
„ Masken- 62.
„ Siegel- 62.
„ weisser- 62.
Laker 146, 155.
Langenbeck 181.
Langhans 84.
Lealand 7.

Leber 102.
Leboucq 53.
Leichtenstern 195.
Leim 41, 42.
Leitz 7.
Leptothrix 179.
Leukämie 160.
Leuckart 194.
Leukocytose 160, 161.
Lewy 140.
Leyden 185, 198.
Liebermann 87.
Linsen 3, 67.
„ trocken 3.
„ Immersions- 3.
„ apochromatische 4.
Lichtheim 132, 196.
Liquidambar 80.
Lithioncarmin 91.
Lochialsecret 187.
Löffler 119, 139.
Löwit 5, 146, 150, 155.
Lostorfer 155.
Lugol'sche Lösung 83.
Lungenphthise 174.
Lustgarten 139, 140.
Lutz 138.
Lübimoff 136.
Lymphocyten 159, 162.
kleine 159.
grosse 159.
Lymphoide Zellen 197.

Macerationsmittel 74.
Magensaft, künstlicher 36.
Malassez 156.
Marchiafava 163.
Martinotti 80.
Masscylinder 16.
Mastzellen 107,
„ körner 108.
Megaloblasten 162.
Menstrualflüssigkeit 187.
Merkel 35, 88.
Mesenterium 144.
Messer 19.
Methylenblau 105, 119.
Methylgrün 105.
Methylviolett 105, 119.
Meyer 52, 53, 83.
Microchemie 65, 67.
Micrococcen 114.
Micrococcus tetragenus 127, 179.
Microorganismen 67, 68, 72.
Micrometer, Objectiv 8.
Ocular 8.
Microtom 21.
„ von de Groot 26.
„ von Gudden 25, 26.
„ von Jung 26. 27.
„ von Minot 26.
„ von Schanze 22, 26.
„ von Verick 26.
Mikroskop 1, 5, 6, 7.
Mikroskopierlampen
„ von Auer 13.
„ von Hartnack 14.
„ von Kochs-Wolz 13.
„ von Lassar 14.
Mikulicz 130.
Miller 169.
Minot 26.
Mononucleäre Uebergangsformen 160.
Mosler 128.
Mosso 156.
Möricke 189.
Mucin 72.
Mundflüssigkeit 168.
Müller'sche Flüssigkeit 32, 73.
Myelinkörner 170.
Myelocyten 161.

Nadeln 19.
Natron-Carmin, löslicher 90.
Natronlauge 76.
Naunyn 141.
Neisser 116, 191.
Neelsen 135, 136.
Neumann 14, 51, 84. 89, 162.
Neurokeratin 37.
Normoplasten 162.
Nothnagel 195.
Oberhäuser 5, 11.

Obermeier 163.
Obersteiner 87.
Objectgläser 15.
Objecttisch, erwärmbarer 5.
Ocular 5.
Oele 45, 52, 78.
„ Bergamottöl 45, 52.
„ Cedernholzöl 45, 52.
„ Lavendelöl 45, 53.
„ Nelkenöl 45, 52.
„ Origanumöl 45, 52.
„ Petroleum 46.
„ Sandelholzöl 45, 52.
„ Terpentin 42, 46, 47, 55, 56.
Ogston 181.
Orth 91.
Orthenberger 129, 164.
Orthmann 187.
Osmiumsäure 31, 103.
Osteomalacie 88.
Oxalsaurer Kalk 182.

Pal 96, 101.
Pal's Verfahren 96.
Pancreasextract 36.
Paneth 95.
Panizza 171.
Paraffin 41, 42, 45, 46.
Partsch 91.
Pepsin 36.
Perls 35.
Perroncito 194.
Pertik 37.
Peters 137.
Phenol (Carbolsäure) 78.
Phosphorsaurer Kalk 182, 183.
Photoxylin 42.
Picrinsäure 31, 73.
Picrin-Schwefelsäure 31.
Picrocarmin 88.
Picrolithioncarmin 91.
Pincetten 19.
Placentazotten 188.
Plasmodium Malariae 142, 163.
Plathner 98.
Platinchlorid 35
Pneumobacillus Friedländer's 129, 178.
Pneumococcen 114.
Poikilocytose 163.
Polarisationsapparat 5.
Polynucleäre Leukocyten 160, 179.
Ponfick 181.
Posner 35.
Powell 7.
Präparatenkästen 64.
Pravaz'sche Spritze 70.
Prazmowsky 7, 195.
Prior 141.
Prostatasecret 192.

Quecksilber 101.
Sublimatmethode von Golgi 100
Modification derselben von Pal 101.
Quincke 104, 158, 162, 196, 197.
Quittenschleim 53, 54.

Rabl 33, 35, 109.
Rabl's Chrom-Ameisensäure 33.
Ranvier 22, 37, 38, 39, 73, 88, 103.
Rasirmesser 20.
Reagentien 65.
Reagenzgläser 16.
v. Recklinghausen 77, 99, 112. 148.
Reichert 5, 7.
Reinecke 157.
Reinhardt 174.
Remak 173.
Renaut 94, 98.
Revolverapparat 5.
Rhachitis 88.
Ricinusöl 42.
Riedel 184.
Rindfleisch 134.
Ross 7.
Rossbach 100.
Ruge 190.

Saenger 173.
Safranin 105.
Salomonsen 175.
Salpetersäure 34, 71.
Salzsäure 71.
Sandarack 80.
Sarcine 128, 179, 185.
Scalpell 20.

Schaellibaum 52, 54.
Schanze 22,
Scheeren 19.
Schellack 52.
Schieck 5.
Schiefferdecker 43.
Schiele 84.
Schimmelbusch 145, 146, 155.
Schizomyceten 111, 198.
  Färbung derselben 113.
Schlegtendal 181.
Schmalz 41, 42, 46,
Schmidt 5, 7.
Schnitte 28.
  „ Band 47.
  „ Consistenz 70.
  „ Serien 49.
  „ Strecker 48.
M. Schultze 5, 78, 103, 149, 150.
Schusterkugel 13,
Schwarz 88.
Schwefelammonium 104.
Schwefelsäure 71.
Schwimmhaut 143.
Sclerose 74, 75.
Sehne 73.
Seibert 7.
Seife 41, 42,
Siebdosen (Steinach'sche) 18.
Siderosis 104.
Silber 99.
  Methode von Recklinghausen 99.
  „ „ Golgi 100.
Smidt 171.
Soorpilz 169, 179, 187.
Spatel 19, 29.
Spectroscop 5.
Speichelkörperchen 168.
Speisereste 193.
Sperma 192
Spermacet 41, 42, 46.
Spermakrystalle 192.
Spermatozoen 192.
Spilling 160.
Spirillum des Recurrensfiebers 115, 141, 163.
Spritzflaschen 16.
Sputa 166.
Staphylococcus pyogenes albus 126, 165.
  „ „ aureus 126, 164, 187.
Stativ 1.
Stearin 41, 42.
Steingutplatten 18.
Stephenson 4.
Stilling 109.
Strasser 47, 52, 53, 55.
Streptococcus des Erysipels 126, 128.
Streptococcus pyogenes 126.
  „ „ pneumoniae (Weichselbaum) 128.
Stricker 5, 150, 155.
Styrax 80.
Sublimat 34.
Summers 49.

Talg 41, 42.
Tappeiner 175.
Teichmann 165.
Terpentin 42, 46, 47, 55, 56.
Thiersch 57.
Thoma 61, 156.
Threlfall 52.
van Tieghem 195.
Toison 56.
Transparenzseife 42.
Traube 172, 185.
Trichomonas vaginalis 186.
Trichterstativ 16.
Trippelphosphate 182.
Trockenpräparate 123, 124, 125.
  Koch'sche Methode der Färbung derselben 153.
Tropfflaschen 16.
Tuberkelbacillenfärbung.
  „ Gabbet's Verfahren 136.
  „ Fraenkel's Verfahren 136.
  „ Koch Ehrlich'sche Methode 131, 135.
  „ Kühne's Verfahren 135.
  „ Verfahren von Ziehl-Neelsen 135.
Tuczek 96.
Tusche 10.

Trypsin 36.
Tyrosin 183.

Uhrschälchen 16, 71.
Unna 138.
Urin 181.
Uteruscarcinom 189.

Vaginalsecret 186.
Vaselin 46.
Vergoldung 101, 102.
Vergoldungsmethode von Golgi 103.
Vergrösserung: Bestimmung derselben 8.
Verick 7.
Vesuvin 105.
Villemin 175.
Virchow 76, 162, 174, 175, 193, 200.
Hans Virchow 32.
Voit 182.

Wachs 41, 42, 46.
Waldeyer 112, 190.
Waldstein 37.
Wallrath 41, 42.
Weber 37.
Weichselbaum 129, 165, 187, 198.
Weigert 24, 34, 50, 52, 74, 79, 80, 88, 91, 95, 106, 113.
Weigert's Bacterienfärbung 121.
Wiegert 52, 54.
Widal 140.
Winkel 7.
Winter 186, 187.
Wyder 188.

Xanthin 183.
Xylol 45, 63, 78.
Carbolxylol 52.

Zählung der Blutkörper 156.
Zeichenapparat 5.
Zeichenfeder 10.
Zeichentisch 9, 10.
Zeichnen 8, 9.
Zeiss 4, 5, 7.
Ziehl 135, 136.
Zinkographie 11.
Zuckersyrup 40.
Zunge 144.

Druckfehler.

S. 32, Zeile 16 und 27 lies Erlicki statt Erlitzky.

Tafelerklärung.

Die Zeichnungen sind sämmtlich bei derselben Vergrösserung, 1 : 1000, entworfen.

Färbung des Trockenpräparates mit Anilinwasser-Gentianaviolett.

Fig. I. Micrococcenketten aus Eiter.

„ II. Tuberkelbacillen aus dem Saft eines Miliartuberkels.

„ III. Typhusbacillen aus einem Peyer'schen Plaque.

„ IV. Recurrensspirillen aus dem Blut.

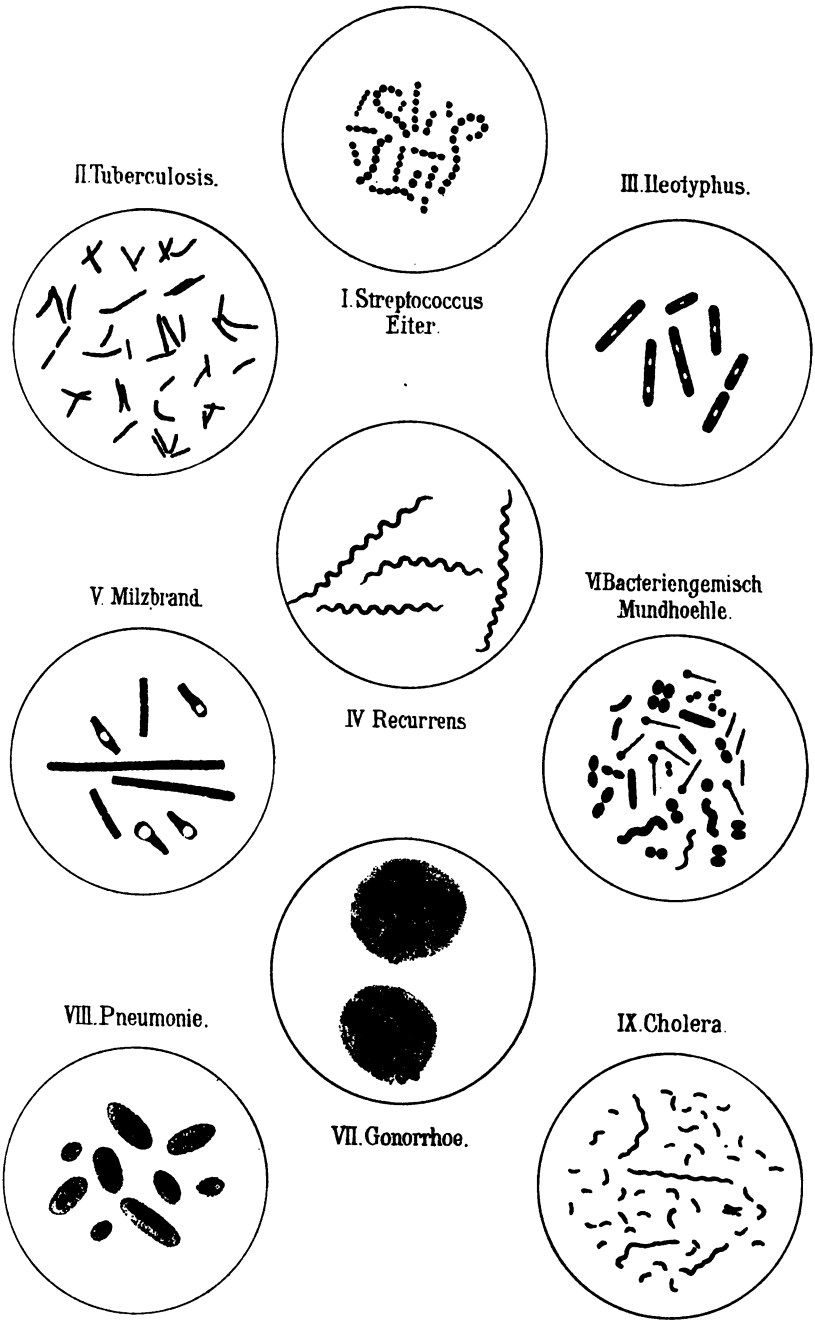
„ V. Milzbrandstäbchen und -Fäden; Sporenbildung.

„ VI. Verschiedene Schizomyceten aus der Mundflüssigkeit.

„ VII. Eiterzellen mit Micrococcenhaufen aus gonorrhoischem Secret.

„ VIII. Kapselmicrococcen der Pneumonie.

„ IX. Cholerabacillen resp. -Spirillen.


II.Tuberculosis.
I.Streptococcus Eiter.
III.Ileotyphus.
V. Milzbrand.
IV Recurrens
VI Bacteriengemisch Mundhoehle.
VIII.Pneumonie.
VII.Gonorrhoe.
IX.Cholera.

J43 Friedlaender, C.
F91 Mikroskopische
1889 Technik. 59942

NAME	DATE DUE

J43 Friedlaender, C.
F91 Mikroskopische
1889 Technik.

NAME